NIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

THIAGO BARCELLOS DA SILVA

Resolução cinética enzimática de álcoois e aminas quirais contendo boro e biorredução de cetonas contendo boro

Tese de Doutorado

Orientador

Prof. Dr. Leandro Helgueira de Andrade

Versão Corrigida

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

26/ 01/ 2011

THIAGO BARCELLOS DA SILVA

Resolução cinética enzimática de álcoois e aminas quirais contendo boro e biorredução de cetonas contendo boro

Tese apresentada ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Química (Química Orgânica)

Orientador: Prof. Dr. Leandro Helgueira de Andrade

São Paulo

2011

Thiago Barcellos da Silva

Resolução cinética enzimática de álcoois e aminas quirais e biorredução de cetonas contendo boro.

Tese apresentada ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Química (Química Orgânica)

Aprovado em: _____

Banca examinadora

Prof. Dr. Leandro Helgueira de Andrade
Instituto de Química - Universidade de São Paulo
(Orientador - Presidente)

Prof. Dr. Alvaro Takeo Omori
Centro de Ciências Naturais e Humanas - Universidade Federal do ABC

Prof. Dr. Giuliano Cesar Clososki
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo

---

Prof. Dr. Jonas Gruber
Instituto de Química - Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Reinaldo Camino Bazito
Instituto de Química - Universidade de São Paulo

25 de fevereiro de 2011

Aos meus pais, Eduardo e Maristela, minha eterna gratidão por tudo que fizeram para que eu pudesse estudar.

Fica aqui o meu reconhecimento e minha profunda admiração por vocês.

Agradecimentos

Um agradecimento especial ao Prof. Leandro pela oportunidade de realizar o doutorado em seu laboratório. Pelo profissionalismo e pelas excelentes condições de trabalho, por sempre exigir um trabalho de qualidade e mostrar que dedicação e competência durante a execução de um trabalho certamente renderá bons frutos.

Aos colegas e amigos que estão ou estiveram no laboratório durante este período: Joel S. Reis, Leandro Piovan, Priscila Milani, Patrícia B. Brondani, Lidiane Araújo, Edna Kagohara, Thais Garcia, Camila vieira, Catarina Gruenwalt, Dayvson Palmeira, Natássia Perez, Camila Rodrigues, Lya P. Rebelo, Alexandre Vieira, Mônica Pasquini e Eliane Pedrozo. Estes quatro anos de convivência no laboratório e até mesmo fora dele foram muito importantes na minha vida, tanto pessoal quanto profissional. Certamente sentirei falta dos bons momentos que passamos juntos e principalmente dos churrascos realizados na nossa apertada cozinha e das conversas durante as canecas e canecas de café.

Um agradecimento especial aos alunos de iniciação Carolina G. Santiago, Luis Felipe M. Zapico e Adriana O. Pacheco, que não somente contribuíram para alguns estudos deste trabalho, mas principalmente por que foram muito importantes para a minha formação profissional enquanto eu os orientava.

Ao Prof. João Valdir Comasseto por abrir as portas de seu laboratório para o uso de sua infraestrutura e também aos amigos Rogério A. Gariane (Tico), Márcio S. da Silva e Renan S. Ferrarini, Fabiano T. Toledo e Cristiano Raminelli pelas discussões de química e conversas fiadas durante os cafezinhos.

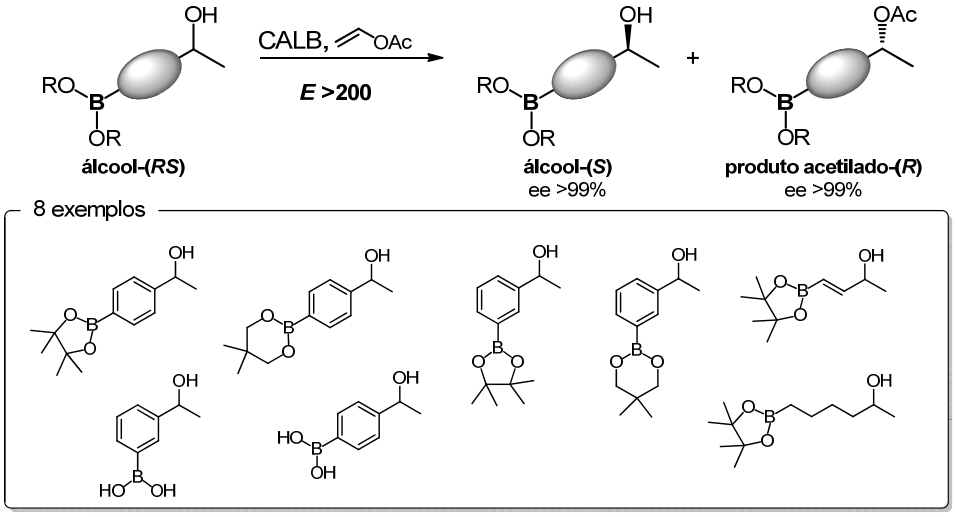
Aos amigos que moraram comigo estes quatro anos na famosa república Solar dos Príncipes: Sidnei Moura, Fabriciano Pinheiro, Daniel Andreguetti, Alex Kanno, André Ribeiro, Tiago Peixe, Rodrigo Spricigo e Maurício Koakutsu. Certamente se não fosse a amizade e companheirismo de vocês a minha estada em São Paulo não seria tão prazerosa.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão da bolsa de estudos e a FAPESP (Fundo de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) bom como ao CNPq pelo auxílio financeiro a esta pesquisa.

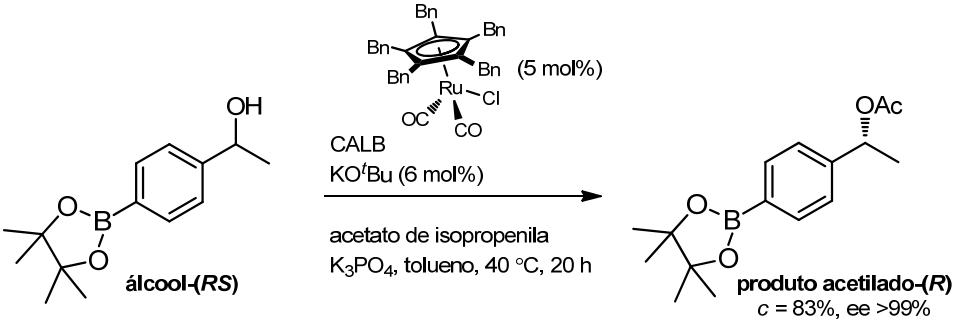
Resumo

Silva, T. B. **Resolução cinética enzimática de álcoois e aminas quirais contendo boro e biorredução de cetonas contendo boro** 2010. 199p Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

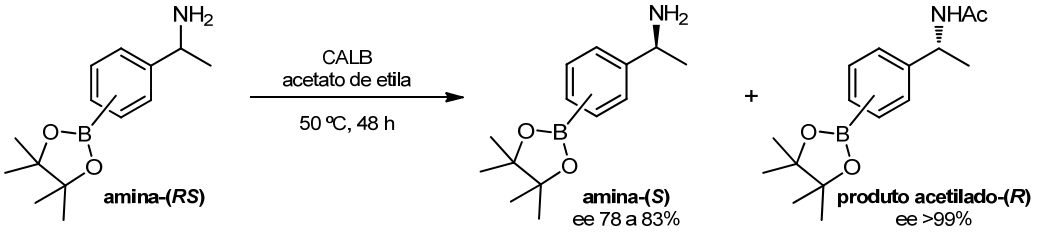
Neste trabalho, foi avaliada a reatividade de compostos orgânicos contendo boro frente a reações catalisadas por enzimas. Diferentes exemplos de álcoois secundários quirais contendo boro foram acetilados enantiosseletivamente pela lipase de *Candida antarctica* (CALB). Todas as reações ocorreram com excelente enantiosseletividade (*E* >200) e ambos os produtos acetilados, bem como os álcoois remanescentes foram obtidos com alto excesso enantiomérico (ee >99%).



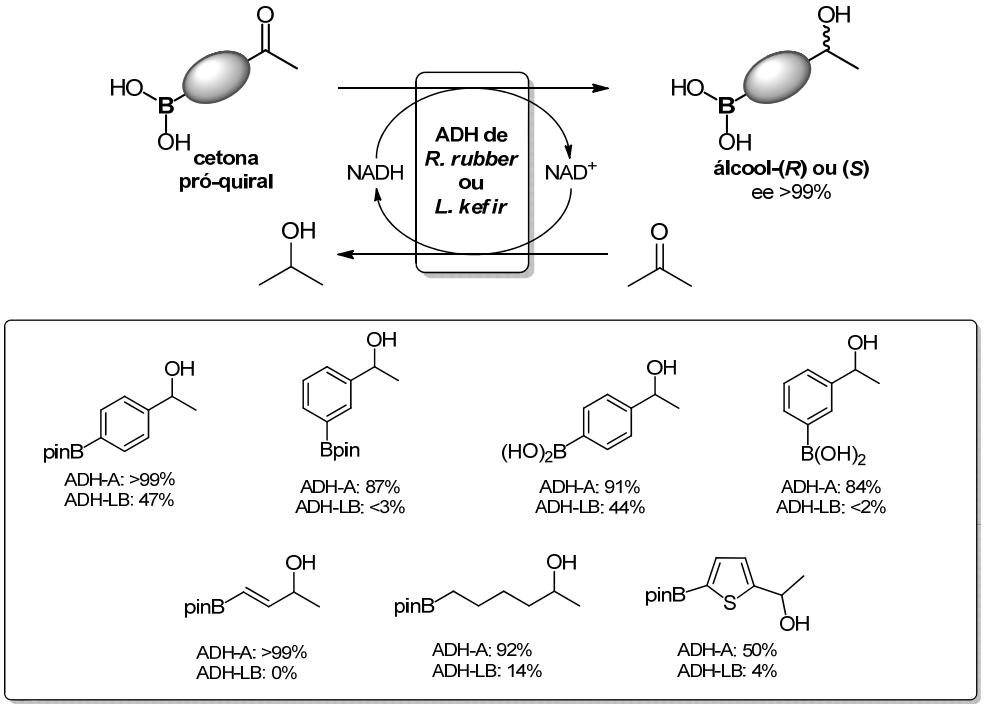
Além da resolução cinética enzimática, foi avaliado também o processo de resolução cinética dinâmica quimio-enzimática, empregando complexos de rutênio como agentes de racemização. Após estabelecer as condições adequadas para a reação, foi possível obter o produto acetilado de configuração-(*R*) com 83% de conversão, mantendo a enantiosseletividade observada na reação de resolução cinética enzimática.



Como extensão ao trabalho realizado com os álcoois contendo boro, foi estudada a resolução cinética de aminas primárias quirais contendo boro. Foram avaliadas diversas condições reacionais para alcançar a máxima resolução cinética destas aminas via acilação enantiosseletiva catalisada pela lipase CALB. Excelente enantiosseletividade (*E* >200) e altos excessos enantioméricos (até >99%) foram obtidos utilizando acetato de etila tanto como reagente doador de acila como solvente da reação.



Adicionalmente, foi investigada a reação de biorredução de cetonas pró-quirais contendo boro. Os melhores resultados foram obtidos com as enzimas álcool desidrogenases (ADHs) purificadas dos microorganismos *Rhodococcus ruber e Lactobacillus brevis*. A ADH de *R. ruber* (ADH-A) promoveu a biorredução das cetonas aos respectivos álcoois de configuração-(*R*) com excelente enantiosseletividade (ee >99%), enquanto a ADH de *L. brevis* (ADH-LB) catalisou a redução de alguns exemplos de cetonas aos respectivos álcoois de configuração-(*S*), também com excelente enantiosseletividade.

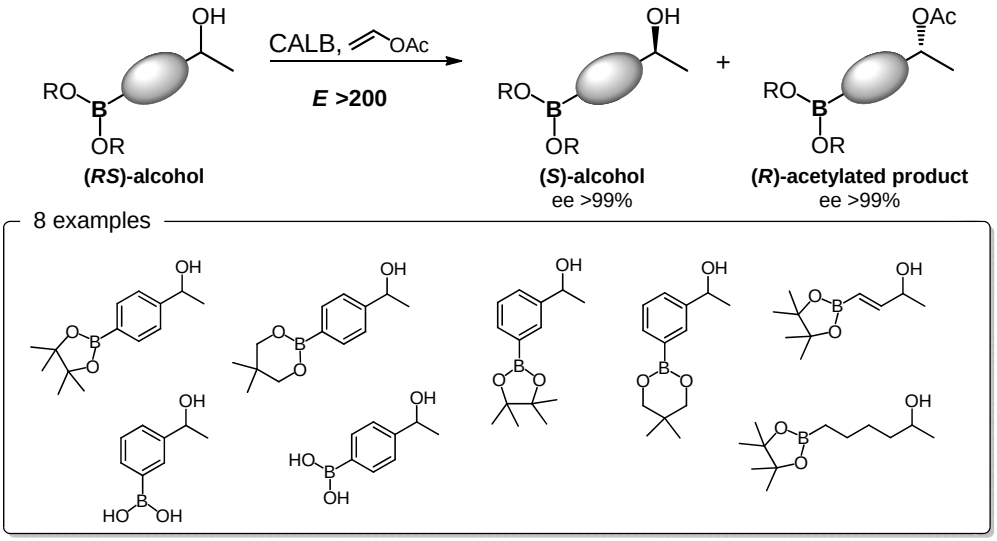


Palavras-chave: Biocatálise, lipase, álcool desidrogenase, boro, álcoois, aminas.

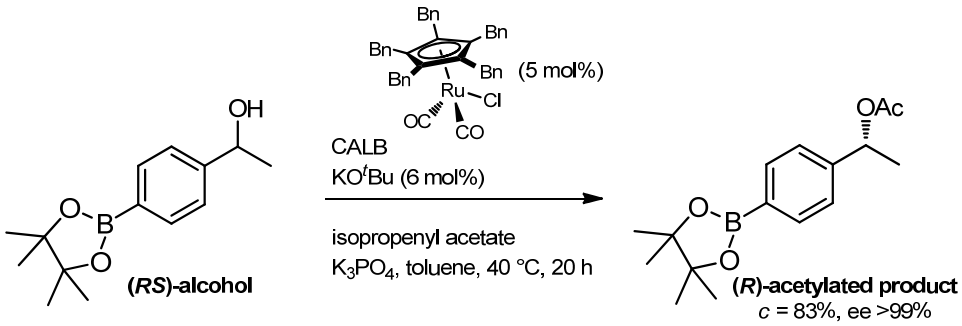
Abstract

Silva, T. B. **Enzymatic kinetic resolution of boron-containing alcohols and amines and the bioreduction of boron-containing ketones** 2010. 199p PhD Thesis – Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

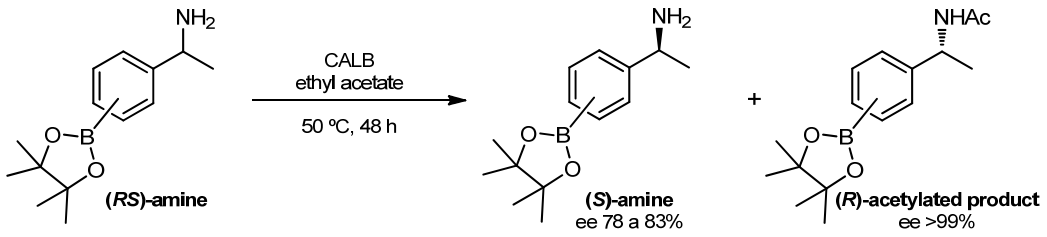
In this work, was evaluated the reactivity of boron-containing organic compounds in enzyme-catalyzed reactions. Different examples of boron-containing chiral secondary alcohols were resolved by enantioselective acetylation mediated by lipase from *Candida. antarctica* (CALB). All reactions showed excellent enantioselectivities (*E* >200) and both remaining substrates and acetylated product were obtained in high enantiomeric excesses (up to >99%).



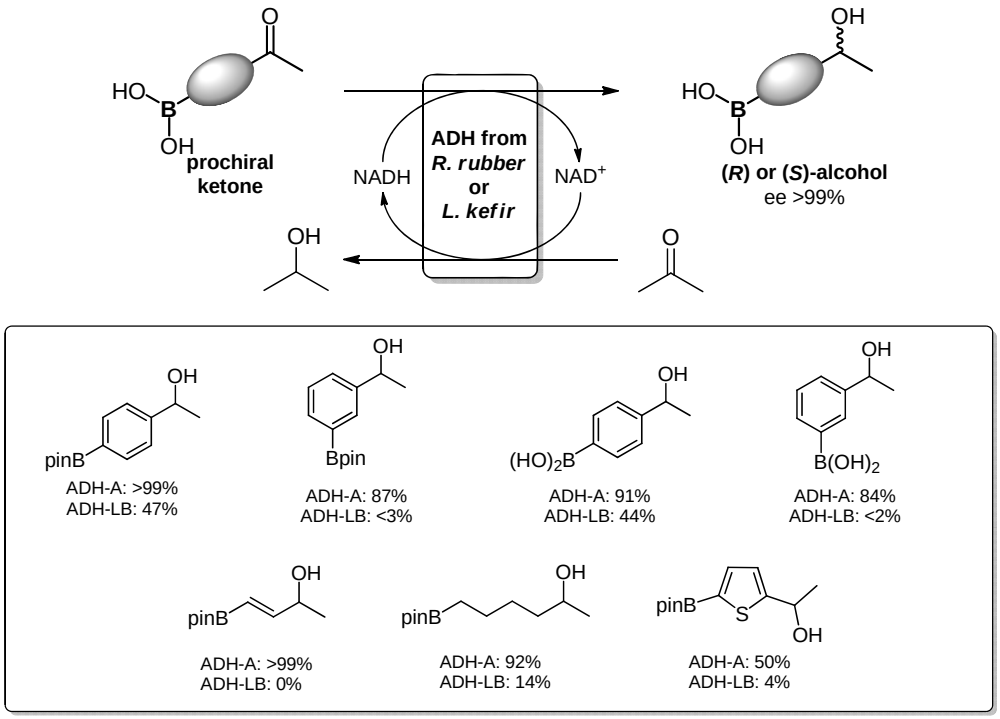
Besides the enzymatic kinetic resolution, the chemoenzymatic dynamic kinetic resolution was also evaluated, using ruthenium complexes as racemization agents. After establishing the best conditions, the acetylated (*R*)-product was obtained with 83% conversion, maintaining the high enantioselectivity observed in the enzymatic kinetic resolution.



As an expansion of work with boron-containing alcohols, the kinetic resolution of boron-containing chiral amines was studied. Several reaction conditions were studied to achieve the kinetic resolution of boron-containing amines via enantioselective acylation mediated by CAL-B. Excellent enantioselectivity (*E* >200) and high enantiomeric excess (up to >99%) of both the remaining amines and amides were obtained using ethyl acetate as both acyl donor and the reaction solvent.



Additionally, the bioreduction of pro-chiral boron-containing ketones was investigated. The best results were obtained with purified alcohol dehydrogenases (ADH) from *Rhodococcus ruber* and *Lactobacillus brevis*. The ADH from *R. ruber* (ADH-A) mediated the bioreduction of ketones to their respective (*R*)-alcohols with excellent enantioselectivity (ee >99%), while the ADH from *L. brevis* (ADH-LB) catalyzed the reduction of some ketones to their respective (*S*)-alcohols, also with excellent enantioselectivity (ee >99%).



Keywords: Biocatalysis, lipase, alcohol dehydrogenases, boron, alcohols, amines

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$[\alpha]_D$	rotação específica
Ac	grupo acetila
ADH	álcool desidrogenase
Ar	grupo arila
Bn	grupo benzila
Bneop	grupo éster borônico formado a partir do neopentilglicol
Bpin	grupo éster borônico formado a partir do pinacol
Bu	grupo butila
c	conversão
CALB	lipase de *Candida antarctica* (fração B)
CCD	cromatografia em camada delgada
CG	cromatografia gasosa
CG-EM	cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	dimetilformamida
E	razão enantiomérica
ee	excesso enantiomérico
EMAR	espectrometria de massas de alta resolução
EM-ISE	espectrometria de massa com ionização por spray de elétrons
Et	grupo etila
IV-TF	espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
Me	grupo metila
NADH	dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
NADPH	fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
NBS	*N*-bromosuccinimida
p.f.	ponto de fusão
PCC	clorocromato de piridínio
PDC	dicromato de piridínio
Ph	grupo fenila
ppm	partes por milhão
RCD	resolução cinética dinâmica
RCE	resolução cinética enzimática
RMN de ^{13}C	ressonância magnética nuclear de carbono - 13

RMN de ^{1}H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
rpm	rotações por minuto
sec	secundário
t.a.	temperatura ambiente
TBME	éter *terc*-butil metílico (do inglês tert-butyl methyl ether)
TBS	grupo *terc*-butil dimetilsilila
TBSCl	cloreto de *terc*-butil dimetilsilano
terc	terciário
THF	tetraidrofurano
TMS	tetrametilsilano
Ts	grupo tosila

SUMÁRIO

1. Introdução 16

1.1. A importância da quiralidade 16

1.2. A catálise enzimática e a aplicação em síntese orgânica 19

1.3. Biotransformação de compostos contendo heteroátomos 23

1.3.1. Compostos contendo fósforo 24

1.3.2. Compostos contendo enxofre 27

1.3.3. Compostos contendo selênio e telúrio 29

1.3.4. Compostos contendo silício 32

1.3.5. Compostos contendo estanho 34

1.3.6. Compostos contendo germânio 37

1.4. Compostos orgânicos contendo boro: preparação, aplicações sintéticas e atividade biológica 38

1.4.1. Preparação e aplicação sintética de compostos de boro 38

1.4.2. Atividade biológica dos compostos de boro 42

2. Objetivos 45

3. Resolução cinética e resolução cinética dinâmica quimio-enzimática de álcoois secundários contendo boro 46

3.1. Introdução 46

3.1.1. Resolução cinética enzimática de álcoois 46

3.1.2. Resolução cinética dinâmica quimio-enzimática de álcoois 52

3.2. Apresentação e discussão dos resultados 56

3.2.1. Síntese dos álcoois secundários contendo boro 56

3.2.2. Síntese química dos derivados O-acetilados dos álcoois contendo boro 62

3.2.3. Resolução cinética enzimática dos álcoois contendo boro 63

3.2.4. Resolução cinética dinâmica quimio-enzimática dos álcoois contendo boro 71

3.2.5. Determinação da configuração absoluta dos álcoois e ésteres obtidos 80

4. Resolução cinética enzimática de aminas primárias contendo boro 86

4.1. Introdução 86

4.1.1. Resolução cinética enzimática de aminas 86

4.1.2. Síntese e aplicação de aminas contendo boro 88

4.2. Apresentação e discussão dos resultados 90

4.2.1. Síntese de aminas primárias quirais contendo boro 90

4.2.2. Resolução cinética enzimática das aminas primárias quirais contendo boro..... 93

4.2.3. Determinação da configuração absoluta das aminas e amidas obtidas..... 103

5. Biorredução de álcoois contendo boro por enzimas álcool desidrogenases 105

5.1. Introdução 105

5.2. Apresentação e discussão dos resultados 108

5.2.1. Biorredução de cetonas contendo boro mediada por células dos fungos Aspergillus terreus e Rhizopus oryzae 108

5.2.2. Biorredução de cetonas contendo boro mediada por enzimas isoladas de Lactobacillus kefir e Thermoanerobium brockii 111

5.2.3. Biorredução de cetonas contendo boro mediada por ADHs isoladas de Ralstonia sp., Lactobacillus brevis e Rodococcus ruber 116

6. Identificação estrutural dos compostos de boro sintetizados neste estudo 123

6.1. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{1}H e ^{13}C 123

6.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{11}B 125

6.3. Espectroscopia de absorção no infravermelho 127

7. Conclusões 128

8. Parte experimental 130

8.1. Materiais e instrumentação analítica 130

8.2. Procedimentos experimentais 132

*8.2.1. Procedimento geral para a esterificação do grupamento ácido borônico dos ácidos borônicos **66a,b** e **90** 132*

*8.2.2. Procedimento geral para reação de redução dos ésteres acetil-fenilborônicos **59a-d** 134*

*8.2.3. Procedimento geral para a reação de acetilação dos álcoois contendo boro **65a-d**[130] 136*

*8.2.4. Síntese do 3-terc-butil-dimetilsililoxi-1-butino (**68**)[187] 138*

*8.2.5. Síntese do (E)-2-(3-t-butildimetilsililoxi-1-butenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (**70**)[127,188] 138*

*8.2.6. Síntese do (E)-2-(3-hidroxi-1-butenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano [(RS)-**65e**][129] 139*

*8.2.7. Síntese do (E)-2-(3-acetil-1-butenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano [(RS)-**72e**]..... 140*

8.2.8. *Síntese do 6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)hexan-2-ol [(RS)-**65f**]* 140

8.2.9. *Síntese do acetato de 6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)hexan-2-ila [(RS)-**72f**]* 141

8.2.10. *Síntese do pentabenzilciclopentadieno (**74**)*[135] 142

8.2.11. *Síntese do complexo de rutênio η^5-$Bn_5CpRu(CO)_2Cl$ (**73**)*[134] 143

8.2.12. *Avaliação da atividade de racemização dos complexos de rutênio **64** e **73**.* 143

8.2.13. *Síntese dos álcoois alílicos (RS)-**92a,b**.*[189] 144

8.2.14. *Síntese dos ésters pinacólicos dos ácidos (4 e 3-(1-hidroxialil)fenil)borônicos [(RS)-**65j,l**].* 145

8.2.15. *Procedimento geral para a reação de oxidação dos álcoois contendo boro **65e,f,j**, e **65l*** 146

8.2.16. *Procedimento geral para a obtenção dos bifeniletanóis **77a,b** através de reações de acoplamento do tipo Suzuki-Miyaura.*[141] 147

8.2.17. *Procedimento geral para síntese dos ésteres pinacólicos dos ácidos 4- e 3-(1-aminoetil)fenilborônicos, (RS)-**84a,b*** 148

8.2.18. *Procedimento geral para a reação de acetilação das aminas (RS)-**84a,b*** 150

8.2.19. *Reação de bromo-desborilação dos compostos (RS)-**86a,b*** 151

8.2.20. *Procedimento geral para a resolução cinética enzimática dos álcoois contendo boro (RS)-**65a-f** em pequena escala* 152

8.2.21. *Procedimento geral para a resolução cinética enzimática dos álcoois contendo boro (RS)-**65a-f** em escala preparativa* 152

8.2.22. *Determinação da configuração absoluta dos álcoois (S)-**65a,b*** 155

8.2.23. *Determinação da configuração absoluta do álcool (S)-**65f***[144] 156

8.2.24. *Procedimento geral para a resolução cinética dinâmica quimio-enzimática do álcool (RS)-**65a*** 156

8.2.25. *Resolução cinética enzimática das aminas (RS)-1-((4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etanaminas, [(RS)-**84a,b**]* 157

8.2.26. *Procedimento geral para o crescimento dos fungos Aspergillus terreus e Rhizopus oryzae* 158

8.2.27. *Preparação da solução tampão fosfato (pH 7, 50 mM) utilizada nas reações de biorredução* 159

8.2.28. *Procedimento geral para a biorredução das cetonas **59a,b** na presença dos fungos Aspergillus terreus e Rhizopus oryzae* 159

8.2.29. *Procedimento geral para a biorredução das cetonas **59a,b** com a enzima álcool desidrogenase de Lactobacillus kefir* 159

*8.2.30. Procedimento geral para a biorredução das cetonas **59a,b** com a enzima álcool desidrogenase de Thermoanaerobium brockii..... 160*

*8.2.31. Procedimento geral para biorredução das cetonas contendo boro **59a-j** e **66a,b** pelas ADH de L. brevis (ADH-LB) e R. rubber (ADH-A)..... 160*

9. Referências bibliográficas..... 161

10. Espectros Selecionados..... 173

1. Introdução

1.1. A importância da quiralidade

Atualmente, a preparação de compostos orgânicos de maneira enantiosseletiva é um dos principais objetivos dos químicos orgânicos sintéticos,[1-2] e isto se deve principalmente à reconhecida importância da quiralidade nos processos biológicos.[3]

Os enantiômeros possuem propriedades físicas e químicas idênticas em um ambiente aquiral, no entanto, em um ambiente quiral, ou seja, na presença de outras moléculas quirais os enantiômeros passam a ter propriedades diferentes. A atividade biológica de substâncias quirais geralmente depende de sua estereoquímica, uma vez que um organismo vivo é um ambiente altamente quiral.[4]

A atividade biológica associada a cada um dos enantiômeros de uma substância utilizada para fins medicinais passou a ser encarada com mais seriedade a partir da década de 1960, com os casos de má-formação de fetos associados ao consumo do fármaco talidomida (Figura 1.1). A talidomida é uma droga que possui um forte poder sedativo e anti-náusea, e era considerada apropriada para mulheres em inicio de gestação. Posteriormente foi descoberto que esta droga também possuía um forte efeito teratogênico o que levava a sérios efeitos colaterais na formação do feto. Estes efeitos foram atribuídos ao enantiômero-(*S*) o qual ocasionava a teratogenia, enquanto o enantiômero-(*R*) levava ao efeito desejado.[3]

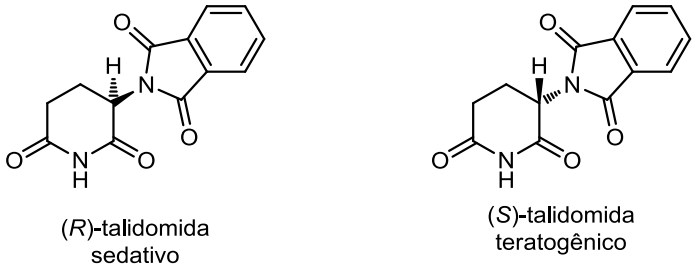


Figura 1.1. Os enantiômeros da talidomida.

A partir deste episódio, órgãos que regulam a comercialização de medicamentos, como o FDA (*Food & Drug Administration,* órgão regulatório do EUA para a comercialização de alimentos e fármacos), passaram a exigir que se fossem avaliados os efeitos biológicos de cada um dos enantiômeros de uma molécula quiral candidata a fármaco.[5]

Os fármacos quirais são considerados importantes não somente pela sua importância biológica, mas também pelo caráter econômico. A comercialização de fármacos como um único enantiômero tem crescido anualmente. Aproximadamente 70% das novas drogas

aprovadas pelo FDA em 2007 possuíam pelo menos um centro assimétrico, e, entre os dez fármacos campeões de venda no ano de 2004, em nove o ingrediente ativo era quiral.[6] Destes nove fármacos, cinco eram comercializados como um único enantiômero.[7]

A obtenção de moléculas enantiomericamente puras não é somente uma necessidade da indústria farmacêutica. Em muitos casos, em que substâncias bioativas são empregadas na elaboração de agroquímicos, flavorizantes ou aditivos alimentares, apenas um dos enantiômeros apresenta a atividade desejada, sendo que o outro enantiômero pode ser inativo ou até mesmo apresentar um efeito indesejado.

Essas diferenças estão relacionadas com a afinidade de cada um dos enantiômeros por certos receptores ou enzimas, taxas de distribuição, metabolismo e excreção, ou propriedades toxicológicas.

Alguns exemplos de moléculas quirais e o comportamento associado aos seus enantiômeros são mostrados na Tabela 1.1.

Tabela 1.1. Alguns exemplos de compostos quirais e os principais efeitos relacionados aos seus enantiômeros.

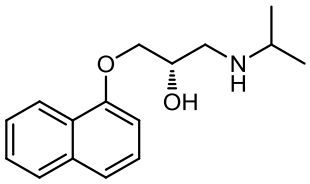
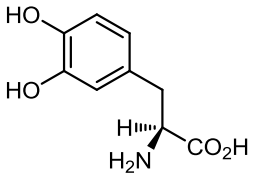
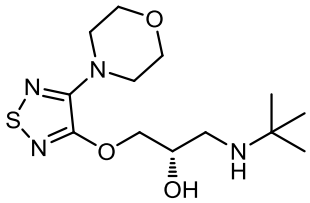
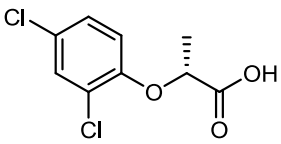
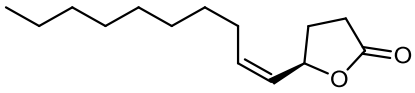
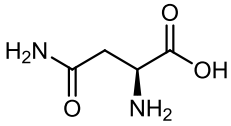
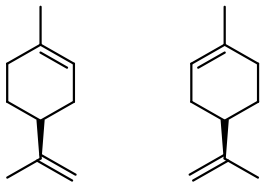
molécula quiral	comentário
 **(*S*)-propranolol**	Bloqueador β-adrenérgico utilizado como anti-hipertensivo. O enantiômero-(*S*) é 98 vezes mais ativo que o enantiômero-(*R*)
 **(*S*)-DOPA**	Administrado juntamente com a dopamina no tratamento da doença de Parkinson. O enantiômero-(*R*) não é metabolizado no organismo, e seu acúmulo pode ser prejudicial.
 **(*R*)-timolol**	Bloqueador β-adrenérgico não seletivo utilizado no tratamento de hipertensão arterial, glaucoma e enxaquecas. O enantiômero-(*S*) é inefetivo.
 **(*R*)-diclorprope**	O (*R*)-diclorprope é empregado como herbicida, enquanto o enantiômero-(*S*) é inativo.

Tabela 1.1. Alguns exemplos de compostos quirais e os principais efeitos relacionados aos seus enantiômeros (continuação).

molécula quiral	comentário
 **(*R*)-japonilura**	Feromônio de atração sexual do besouro japonês (*Popilia japonica*). O enantiômero-(*S*) é inativo.
 **(*S*)-asparagina**	O aminoácido (*S*)-asparagina produz uma sensação de amargo, enquanto o enantiômero oposto, a (*R*)-asparagina produz a sensação de doce.
 **(*S*)-limoneno** **(*R*)-limoneno**	O (*S*)-limoneno é responsável pelo aroma de limão, enquanto que o (*R*)-limoneno é responsável pelo aroma de laranja.

Assim, com o reconhecimento da importância da quiralidade, nas ultimas décadas houve um intenso desenvolvimento de metodologias sintéticas estereosseletivas.

De uma forma sucinta, pode-se dividir as metodologias empregadas para obter compostos enantiomericamente puros em três categorias, levando em consideração o material de partida.[1]

(i) A partir de compostos presentes na natureza, ou seja, naturalmente enantiopuros, como aminoácidos e carboidratos. Através de transformações químicas em grupos funcionais presentes nestes substratos, aproveitando-se da estereoquímica presente no esqueleto principal.

(ii) Através da síntese assimétrica, em que um centro aquiral ou pró-quiral presente na molécula é transformado em um centro assimétrico de maneira estereosseletiva. Várias metodologias podem ser empregadas com este objetivo, assim como auxiliares quirais ou catalisadores quirais (complexos organometálicos ou por simples moléculas orgânicas) e também enzimas.

(iii) Uma terceira forma é através da resolução de racematos, o qual é amplamente empregado na separação de enantiômeros em escala industrial. A resolução de racematos pode ser realizada através de (a) cromatografia com fase estacionária quiral, (b) cristalização preferencial ou cristalização diasteroisomérica ou (c) através da resolução cinética mediada por agentes químicos ou por enzimas.

A biocatálise, que é o emprego de enzimas como catalisadores enantiosseletivos, atualmente pode ser considerada um método bastante consolidado para a obtenção de moléculas enantiomericamente enriquecidas ou puras.[8-10]

Nas últimas três décadas, houve um extraordinário desenvolvimento desta metodologia, principalmente com a descoberta de novas enzimas e a aplicação destas em uma grande variedade de reações químicas. Adicionalmente, o avanço da biotecnologia proporcionou o desenvolvimento de técnicas para a modificação estrutural de enzimas naturais, melhorando características como atividade e seletividade frente a determinados substratos.[9,11]

Como consequência deste processo, atualmente um grande número de rotas sintéticas realizadas na indústria empregam processos biocatalíticos, especialmente na indústria farmoquímica.[8,12-13]

1.2. A catálise enzimática e a aplicação em síntese orgânica

As enzimas são proteínas funcionais, com a habilidade de catalisar reações químicas com alta especificidade. As enzimas, assim como os demais catalisadores, aumentam a velocidade das reações diminuindo a barreira energética entre os reagentes e os produtos. Entretanto, as enzimas são consideradas catalisadores muito mais eficientes, podendo acelerar as reações em uma ordem de 10^{17} vezes.[9] O efeito catalítico das enzimas é devido principalmente pela orientação e proximidade entre os substratos que é proporcionada no sítio ativo, favorecendo a ativação de grupos funcionais, removendo ou adicionando prótons ou elétrons.

O perfil energético de uma reação enzimática hipotética é mostrado na Figura 1.2,[14-15] na qual se observa os diferentes estados de transição e intermediários que são gerados durante o curso da reação. Embora uma reação enzimática envolva diferentes estados de transição, a diferença entre as energias livre (ΔG^0) do substrato (**S**) e do produto (**P**) não variam, seja em uma reação catalisada quanto em uma não catalisada. De uma maneira geral, a formação do intermediário enzima-substrato (**ES**) necessita de uma energia livre de ativação ($\Delta G^{\neq}_S$) que dependerá de quão favorável é a orientação do substrato no sítio ativo da enzima. Uma vez que o substrato está devidamente acomodado no sítio catalítico, a formação do próximo intermediário, o complexo enzima-produto, passa por um estado de transição **[ES]**$^{\neq}$, o qual necessita de uma energia livre de ativação ($\Delta G^{\neq}$). Esta energia é composta de dois termos: a energia de ativação ($\Delta G^{\neq}_T$) para a formação do estado de transição **[ES]**$^{\neq}$ a partir da enzima livre e o substrato, e a energia livre do substrato ligado a

enzima (ΔG_S), o qual representa a afinidade entre o substrato e a enzima. Uma vez formado o produto, é necessário uma energia de dissociação do produto do sítio catalítico ($\Delta G^{\neq}_P$).

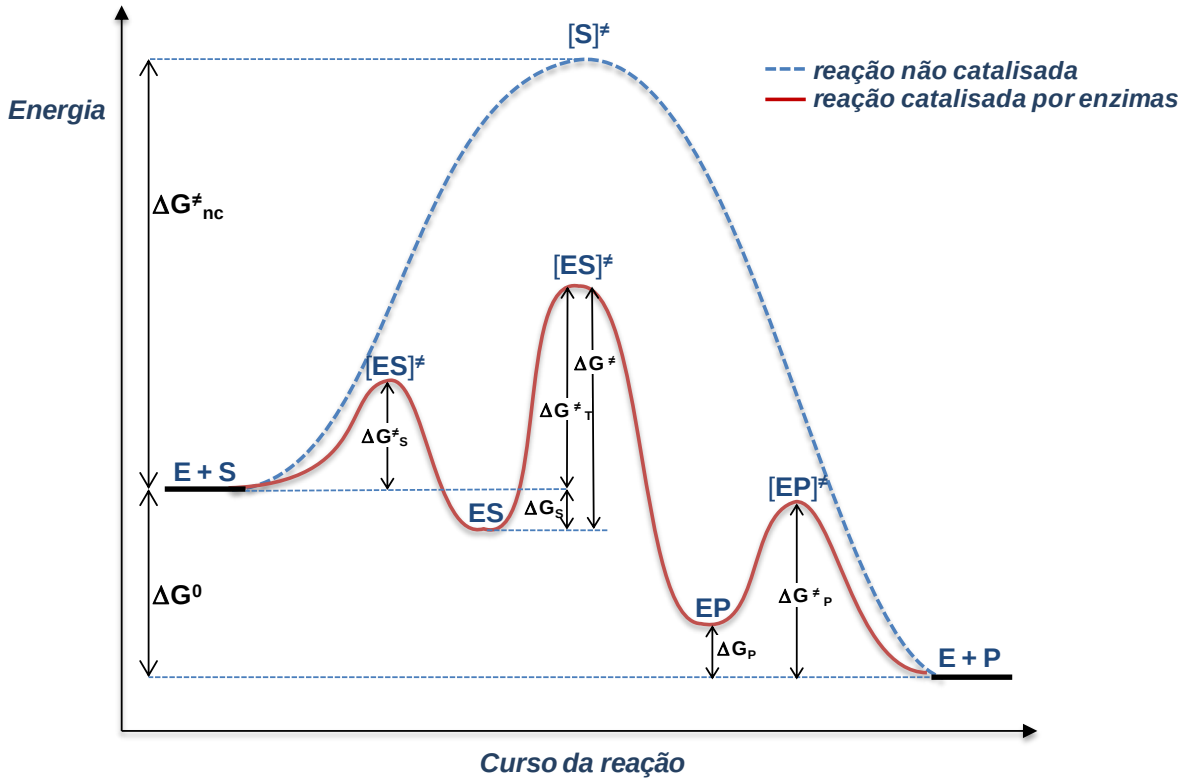


Figura 1.2. Perfil enérgico de uma reação hipotética catalisada por enzimas ($\Delta G^{\neq}$) comparada com uma reação não catalisada ($\Delta G^{\neq}_{nc}$).

Considerando-se que a quiralidade é um atributo espacial, para que um processo biocatalítico seja altamente estereosseletivo o substrato precisa estar adequadamente posicionado no sítio ativo da enzima. Assim, a estereosseletividade proporcionada pelas enzimas origina-se da diferença de energia ($\Delta\Delta G_S^{*}$) entre os estados de transição diasteroisoméricos que levarão aos complexos enzima-substrato como mostrado na Figura 1.3.

Supondo uma reação de uma enzima (**E**) com os enantiômeros-(*R*) e –(*S*) de um determinado substrato (**S**), os complexos enzima-substratos diasteroisoméricos formados serão [$\mathbf{ES}_{(R)}$] e [$\mathbf{ES}_{(S)}$], os quais possuirão diferentes valores de energia livre ($\Delta G^{\neq}$) para seus respectivos estados de transição [$\mathbf{ES}_{(R)}$]$^{\neq}$ e [$\mathbf{ES}_{(S)}$]$^{\neq}$. O resultado é a diferença na energia de ativação para ambos os substratos enantioméricos, e como consequência, um enantiômero será transformado mais rapidamente que o outro. O valor da diferença em energia livre, expressa como $\Delta\Delta G^{\neq}$, fornece uma medida direta da estereosseletividade da reação. Quanto maior o valor de $\Delta\Delta G^{\neq}$, maior será a diferença na velocidade de formação dos produtos provenientes dos enantiômeros-(*R*) ou –(*S*).

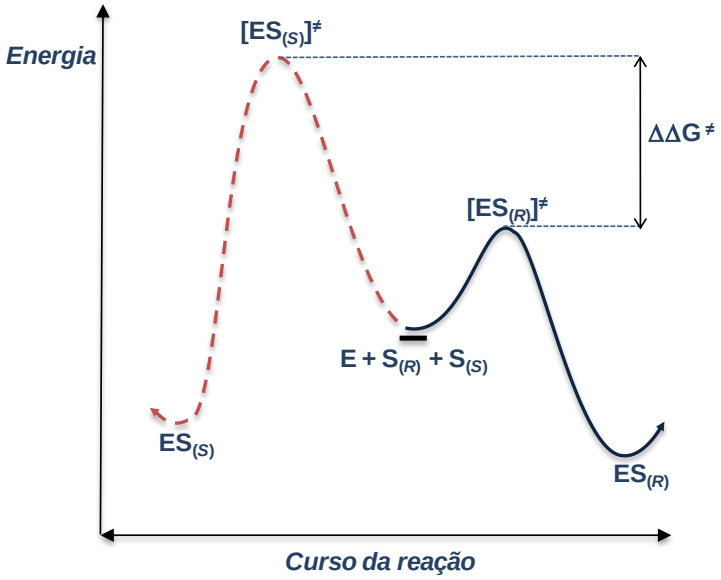


Figura 1.3. Perfil enérgico de uma reação hipotética mostrando a enantiosseletividade mediada por uma enzima, através da diferença de energia livre ($\Delta\Delta G^{\#}$) para a formação dos estados de transição diasteroisoméricos.

Embora possa-se considerar que a biotecnologia e a biocatálise já fossem praticadas na antiguidade, principalmente em processos que envolviam a produção de alimentos, o uso de enzimas com o objetivo sintético somente foi idealizado após o trabalho pioneiro do pesquisador britânico Henry D. Dakin em 1903.[16-17] Dakin, observou que a hidrólise de diferentes ésteres do ácido mandélico por uma lipase extraída do fígado de porco ocorria de maneira enantiosseletiva. E na conclusão da publicação resultante deste trabalho,[17] Henry Dakin escreve que a ação de enzimas sobre compostos opticamente inativos poderia tornar-se um método para a resolução destes compostos e assim fornecendo compostos opticamente ativos.

Outro marco na biocatálise foi a possibilidade de se empregar solventes orgânicos. Em 1936, Ernest A. Syn relatou a reação de esterificação de ácidos carboxílicos com esterases provenientes de pâncreas suíno em solventes orgânicos, como o tolueno, sem que houvesse a inativação da lipase.[18]

A possibilidade de realizar reações biocatalisadas em solvente orgânico alavancou o estudo e a aplicação das enzimas na química orgânica sintética. Com isso, a biotransformação de inúmeros substratos não naturais, e insolúveis em meio aquoso pode ser realizada. Concomitantemente, descobriu-se que o sitio ativo de uma enzima poderia catalisar transformações químicas diferentes daquelas para qual foram naturalmente desenvolvidas.

Um exemplo disso são as lipases, que naturalmente foram desenvolvidas para realizarem a hidrólise de triglicerídeos em ácidos graxos livres e glicerol. Entretanto devido a sua versatilidade catalítica, estas enzimas são atualmente empregadas em um amplo

espectro de reações, como por exemplo, esterificações e transesterificações, amidação, síntese de peptídeos e epoxidação. Essa habilidade de um sítio ativo promover diferentes reações passou a ser chamada de promiscuidade catalítica.[19-20]

As enzimas são classificadas pela União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (UIBMB) de acordo com o tipo de reação que catalisam. De forma geral essas enzimas são classificadas em seis classes principais. A Tabela 1.2 descreve as seis classes de enzimas de acordo com UIBMB e as reações por elas catalisadas. Juntamente, é mostrado a disponibilidade comercial dessas enzimas e um levantamento realizado pelo pesquisador austríaco Kurt Faber a respeito da porcentagem do uso de cada classe de enzimas em síntese orgânica de acordo com o número de publicações.[10]

Tabela 1.2. Classificação das enzimas de acordo com a UIBMB.

classe da enzima	tipo de reação catalisada	disponibilidade comercial[a]	uso em síntese orgânica[b]
oxiredutases (EC. 1)	reações de óxido-redução, oxigenação de ligações C-H, C-C e C=C	264	25 %
transferases (EC. 2)	transferência de grupos funcionais: aldeídicos, cetônicos, acila, metila, fosforila e outros	113	5 %
hidrolases (EC. 3)	formação e hidrólise de ésteres, amidas, lactonas, lactamas, epóxidos, anidridos	748	65 %
liases (EC. 4)	adição de grupos em ligação duplas como C=C, C=N e C=O	71	5 %
isomerases (EC. 5)	racemização, epimerização e rearranjos	30	1 %
ligases (EC.6)	formação ou clivagem de ligações C-O, C-S, C-N e C-C com a clivagem de trifosfato	6	1 %

[a] fonte: catalogo da Sigma-Aldrich® consultado em dezembro de 2010.
[b] pesquisa realizada entre os anos de 1987 a 1999.

As principais vantagens em se utilizar enzimas em síntese orgânica são:[8-10]

i) Quimiosseletividade - Uma vez que o propósito de uma enzima é atuar em um único tipo de grupo funcional, outras funções que poderiam reagir em condições de catálise química, são preservadas;

ii) Regiosseletividade – devido complexa estrutura tridimensional do sítio ativo da enzima, e de acordo com a interação espacial do substrato, a reação pode ocorrer em regiões específicas do substrato;

iii) Enantiosseletividade – como as enzimas são formadas por aminoácidos, que são moléculas quirais, a enzima, bem como o sítio ativo também apresentam quiralidade. Como consequência deste ambiente quiral, a quiralidade presente no substrato é reconhecida. Assim, um substrato pró-quiral poder ser transformado em um produto opticamente ativo, ou os enantiômeros de um racemato podem reagir com diferentes velocidades.

1.3. Biotransformação de compostos contendo heteroátomos

De uma forma geral, os estudos realizados em biocatálise estão focados na busca de novos biocatalisadores ou no emprego destes biocatalisadores em novos meios reacionais, sempre com o objetivo de obter o produto de interesse com a melhor enantiosseletividade possível. Nestes estudos, os substratos escolhidos comumente apresentam certa semelhança estrutural, são disponíveis comercialmente, e não apresentam grupos funcionais mais reativos que possam interagir com a enzima, além do grupo funcional de interesse o qual sofrerá a transformação.

No entanto, uma vez que as metodologias enzimáticas têm se mostrando como uma interessante ferramenta sintética, alguns pesquisadores vêm investindo seus esforços em aplicar estas metodologias na biotransformação de compostos mais funcionalizados e que possuem centros mais reativos, principalmente aqueles contendo heteroátomos em sua estrutura.

Compostos contendo heteroátomos como fósforo, enxofre, selênio, telúrio, silício, estanho e boro são importantes intermediários em síntese orgânica devido a reatividade que estes possuem frente a diferentes reações. A obtenção destes compostos contendo um centro assimétrico em sua forma enantiopura, certamente aumenta as possibilidades do emprego destes como intermediários sintéticos.

As biotrasnformações de compostos de fósforo, enxofre, selênio, telúrio e silício vêm sendo exploradas com bastante intensidade, e somente alguns poucos estudos foram realizados com compostos de estanho e germânio.

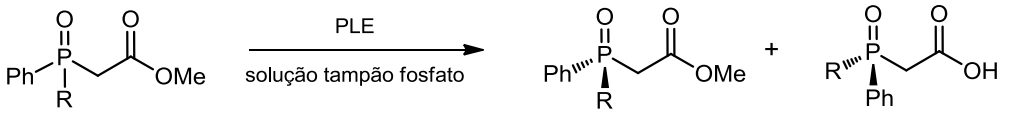
Estes estudos possibilitam conhecer o comportamento de um biocatalisador frente a substratos estruturalmente mais complexos, que contenham heteroátomos não naturais e determinar as possíveis interações moleculares entre estes heteroátomos e os aminoácidos que fazem parte do sitio ativo.

A seguir, serão abordados alguns exemplos de reações de biotransformação empregando compostos contendo os heteroátomos citados. Serão enfatizadas as reações mediadas por enzimas hidrolíticas, e as reações de biorredução catalisada por enzimas oxi-redutases.

1.3.1. Compostos contendo fósforo

Compostos orgânicos contendo fósforo, em especial organofosfonatos α- e β-funcionalizados, são importantes precursores em síntese orgânica. Além disto, estes compostos apresentam diferentes atividades biológicas. São empregados na agricultura como inseticidas, fungicidas e reguladores do crescimento de plantas, e alguns compostos desta classe apresentam atividade como antibióticos, inibidores enzimáticos, agentes antivirais e anticâncer.[21-22]

O primeiro exemplo envolvendo a biotransformação de compostos de fósforo foi a resolução cinética de fosfinoilacetatos de metila **1a-d** através da hidrólise enantiosseletiva do grupamento éster carboxílico na presença da esterase de fígado de porco (PLE = *pig liver esterase*).[23] Neste trabalho, os autores avaliaram a influência do átomo de fósforo, no qual o centro estereogênico está contido, na reação enzimática. Foi observado que a reação de hidrólise ocorreu com boa enantiosseletividade, e tanto os ésteres que não reagiram quanto aos correspondentes ácidos carboxílicos **2a-e**, foram isolados com bons rendimentos (Esquema 1.1).



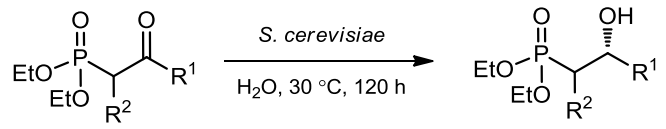
1a, R = Me
1b, R = Et
1c, R = -CH=CH$_2$
1d, R = Bn

(*R*)-**1a**, 50%, ee 82%
(*R*)-**1b**, 45%, ee >96%
(*S*)-**1c**, 40%, ee >99%
(*R*)-**1d**, 46%, ee 95%

(*S*)-**2a**, 42%, ee 82%
(*S*)-**2b**, 41%, ee 81%
(*S*)-**2c**, 22%
(*R*)-**2d**, 43%, ee 79%

Esquema 1.1. Hidrólise enzimática dos fosfinoilacetatos de metila (*RS*)-**1a-d**.

A presença do grupamento fosfonato também foi avaliada pelos mesmos autores,[24-25] porém, através da reação de biorredução dos β-cetofosfonatos **3a-c** mediada por células inteiras de *Saccharomyces cerevisiae*, informalmente conhecida como fermento de pão. Os β-cetofosfonatos **3a-c** foram biorreduzidos com alta enantiosseletividade (ee >97%), levando aos β-hidroxi-fosfonatos (*R*)-**4a-c** com bons rendimentos (Esquema 1.2).[24]



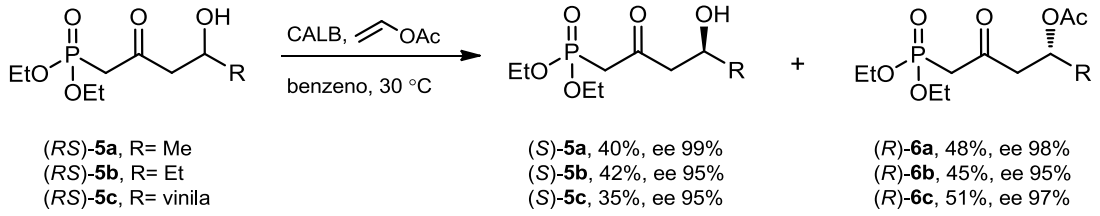
3a, R^1 = Me, R^2 = H
3b, R^1 = Me, R^2 = Me
3c, R^1 = Ph, R^2 = H

(*R*)-**4a**, 78%, ee 97%
(*R*)-**4b**, 70%, ee >99%
(*R*)-**4c**, 65%, ee 99%

Esquema 1.2. Redução enantiosseletiva dos β-cetofosfonatos **3a-c** mediada por células de *S. cerevisiae*.

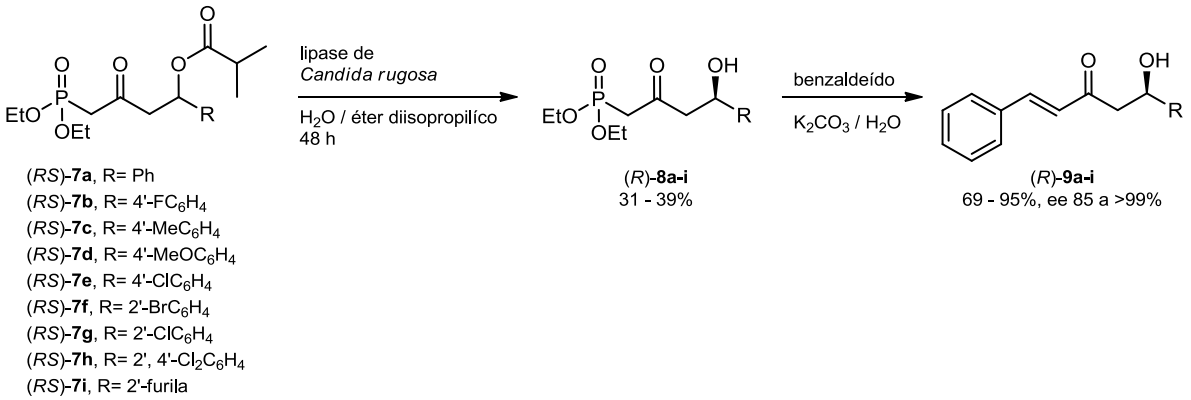
A resolução cinética de álcoois quirais contendo fósforo mediada por lipases também já foi explorada, seja pela acilação enantiosseletiva do grupo hidroxila ou pela hidrólise dos derivados *O*-acilados.[11,26,27]

Um exemplo desta transformação é a acetilação enantiosseletiva dos δ-hidroxi-β-cetofosfonatos (*RS*)-**5a-c** pela lipase de *Candida antarctica* (CALB). Os produtos acetilados (*R*)-**6a-c** foram obtidos com excelente enantiosseletividade (ee >95%) como mostrado no Esquema 1.3.[27]



Esquema 1.3. Acetilação enantiosseletiva dos δ-hidroxi-β-cetofosfonatos (*RS*)-**5a-c** catalisada pela CALB.

No mesmo trabalho, os autores também exploraram a hidrólise enantiosseletiva dos ésteres isopropílicos dos δ-hidroxi-β-cetofosfonatos (*RS*)-**7a-i**. Para esta transformação, foi empregada a lipase de *Candida rugosa* que levou a formação dos produtos de hidrólise (*R*)-**8a-i** com rendimentos moderados (entre 31 a 39%), com excessos enantioméricos que variaram de bons a excelentes, que foram medidos a partir dos compostos (*R*)-**9a-i** obtidos através de uma reação do tipo Horner-Emmons entre os δ-hidroxi-β-cetofosfonatos enantioenriquecidos (*R*)-**8a-i** e benzaldeído (Esquema 1.4). Os compostos (*R*)-**9a-i** apresentam funcionalidades distintas, o que os tornam importantes blocos de construção, além disso, este tipo de estrutura está presente na estrutura química de diferentes produtos naturais.

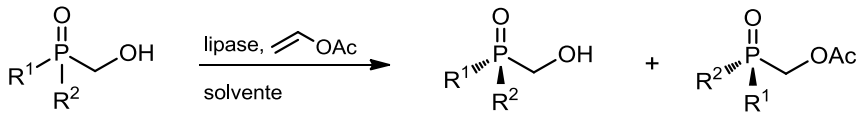


Esquema 1.4. Hidrólise enantiosseletiva dos ésteres isopropílicos dos δ-hidroxi-β-cetofosfonatos (*RS*)-**7a-i** mediada pela lipase de *C. rugosa*, seguida da reação dos álcoois (*R*)-**8a-i** com benzaldeído.

Óxidos de fosfinas quirais, no qual o centro estereogênico está presente no átomo de fósforo, fazem parte da estrutura química de muitos compostos com atividade herbicida, e a configuração absoluta deste centro quiral possui grande influência na atividade.

A obtenção de óxidos de fosfinas enantiomericamente puros também pode ser realizada através de uma resolução cinética enzimática, como por exemplo, a acetilação enantiosseletiva dos hidroxi-alquilfosfinatos **10a-c**. Esta transformação foi realizada em diferentes sistemas de solventes[28] incluindo líquidos iônicos[29] e CO_2 supercrítico.[30] A Tabela 1.3 mostra alguns resultados obtidos nos diferentes sistemas de solventes e as lipases empregadas nesta transformação.

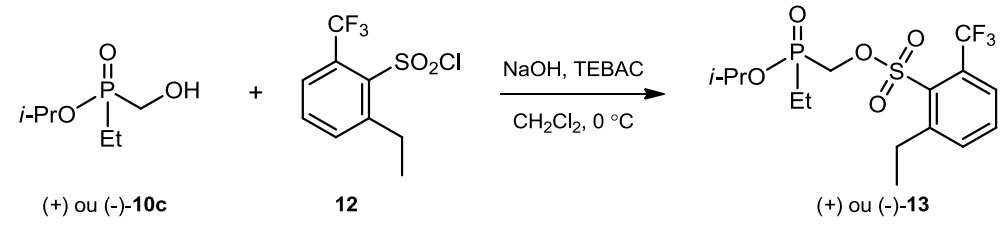
Tabela 1.3. RCE dos hidroxi-alquilfosfinatos **10a-c** em diferentes sistemas de solventes.



substrato	R^1	R^2	solvente	lipase	ee (%)	
					10	**11**
10a	Ph	OMe	CH_2Cl_2	PS	92 (*R*)	86 (*S*)
10a	Ph	OMe	BMIM PF_6	PFL	89 (*R*)	89 (*S*)
10b	Ph	O*i*-Pr	éter diisopropílico	PFL	80 (*R*)	21 (*S*)
10b	Ph	O*i*-Pr	$scCO_2$	CAL	28 (*R*)	27 (*S*)
10c	Et	O*i*-Pr	BMIM PF_6	PFL	95[a]	50[a]

PS = lipase de *Pseudomonas sp.* (Amano); PFL = lipase de *Pseudomonas fluorescens* (AMANO AK); CAL = lipase de *Candida antarctica* (Novozym); BMIM = cátion butil-metil-imidazólio.
[a] configuração absoluta não relatada pelos autores.

A aplicabilidade sintética desta metodologia enzimática foi mostrada através da síntese do fosfonosulfonato **13** pela reação de ambos os enantiômeros do hidroxi-alquilfosfonato **10c** com o cloreto de 2-etil-6-(trifluorometil)benzenosulfonila (**12**) (Esquema 1.5).[31] As duas formas enantioméricas do composto **13** foram avaliadas em testes de atividade herbicida, porém, apenas o enantiômero-(+) apresentou atividade. A configuração absoluta do centro estereogênico não foi reportada neste trabalho.



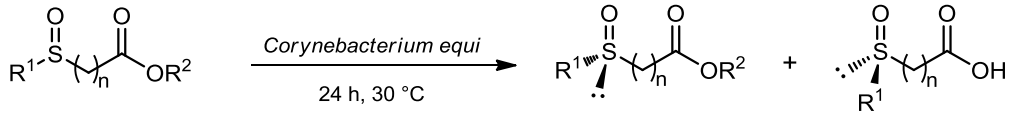
TEBAC = cloreto de benzil-trietilamônio

Esquema 1.5. Síntese do fosfonosulfonato **13.** Apenas o enantiômero-(+) apresentou atividade herbicida.

1.3.2. Compostos contendo enxofre

Compostos orgânicos de enxofre opticamente ativos são amplamente empregados em síntese assimétrica. Dentre as classes de compostos quirais de enxofre, os sulfóxidos quirais, no qual o centro estereogênico está no átomo de enxofre, são os mais empregados como reagentes. Devido à estabilidade configuracional do centro assimétrico, estes compostos têm sido aplicados como auxiliares quirais na formação de ligações carbono-carbono ou carbono-oxigênio.[32-33] Adicionalmente, o grupamento contendo o átomo de enxofre quiral pode ser facilmente removido da molécula sob condições brandas.

O primeiro estudo envolvendo a biotransformação de compostos de enxofre foi publicado em 1986,[34] aonde foi relatada a hidrólise enantiosseletiva dos 2-(arilsulfinil)acetatos (*RS*)-**14a-e** e do 3-(fenilsulfinil)propionato de metila (**14f**), empregando células da bactéria *Corynebacterium equi* (Esquema 1.6). Neste trabalho os autores isolaram os ésteres **14a-f** que não reagiram, porém, sem conseguir recuperar os produtos da hidrólise **15a-f** do meio reacional. A configuração absoluta dos ésteres enantio-enriquecidos **14a-f** não foi estabelecida neste trabalho.



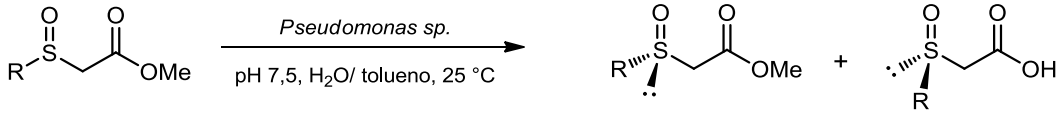
(*RS*)-**14a**, n= 1, R^1 = Ph, R^2 = Me
(*RS*)-**14b**, n= 1, R^1 = 4'-MeC_6H_4, R^2 = Me
(*RS*)-**14c**, n= 1, R^1 = 4'-ClC_6H_4, R^2 = Me
(*RS*)-**14d**, n= 1, R^1 = Ph, R^2 = C_8H_{17}
(*RS*)-**14e**, n= 1, R^1 = Ph, R^2 = $C_{11}H_{22}$
(*RS*)-**14f**, n= 2, R^1 = Ph, R^2 = Me

14a, 43%, ee 90%
14b, 30%, ee 90%
14c, 30%, ee 97%
14d, 31%, ee 42%
14e, 90%, ee 0%
14f, 22%, ee 96%

15a-f
(não isolados)

Esquema 1.6. Hidrólise enantiosseletiva dos sulfinilalcolatos (*RS*)-**14a-f**.

Em um trabalho posterior, a mesma reação foi realizada utilizando um extrato enzimático de *Pseudomonas* sp. (Amano K-10).[35] Nesta abordagem, tanto o produto da hidrólise, quando o éster não reativo foram isolados com bons rendimentos, e com excelente excesso enantiomérico como mostrado no Esquema 1.7.



(*RS*)-**14a**, R = Ph
(*RS*)-**14c**, R = 4'-ClC_6H_4
(*RS*)-**14g**, R = 4'-$NO_2C_6H_4$
(*RS*)-**14h**, R = 4'-$MeOC_6H_4$
(*RS*)-**14i**, R = cicloexila

(*R*)-**14a**, 48%, ee >98%
(*R*)-**14c**, 48%, ee >98%
(*R*)-**14g**, 33%, ee >98%
(*R*)-**14h**, 48%, ee >98%
(*R*)-**14i**, 49%, ee >98%

(*S*)-**15a**, 17%, ee 92%
(*S*)-**15c**, 38%, ee 91%
(*S*)-**15g**, 22%, ee 97%
(*S*)-**15h**, 34%, ee 88%
(*S*)-**15i**, 18%, ee >98%

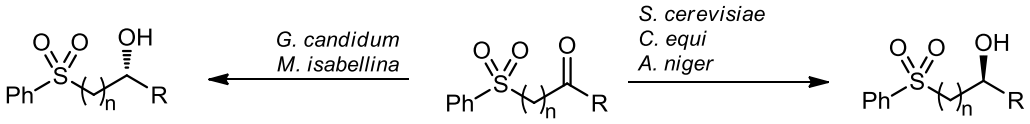
Esquema 1.7. Hidrólise enantiosseletiva dos sulfinilacetatos de metila (*RS*)-**14a,c,g-i**.

As hidroxi-alquilsulfonas quirais também são interessantes intermediários sintéticos, em especial as β-hidroxi-alquilsulfonas, que podem ser empregadas na síntese de lactonas, tetraidrofuranos e furanonas.[36] Estes intermediários podem ser obtidos através da biorredução das correspondentes cetosulfonas, e dependendo do microorganismo empregado na biorredução, tanto o enantiômero-(*R*) quanto o enantiômero-(*S*) podem ser obtidos.[37-39].

Como mostrado na Tabela 1.4, os melhores resultados foram obtidos com as células de *S. cerevisiae*.[37,39] Os produtos da biorredução (*S*)-**17a,b** foram obtidos com altos rendimentos e excessos enantioméricos (linhas 1 e 6), exceto quando o composto **16c** foi empregado como substrato (linha 7). Resultados similares foram obtidos com as células da bactéria *Corynebacterium equi*[38] e do fungo *Aspergillus niger*[39] (linhas 2 e 5).

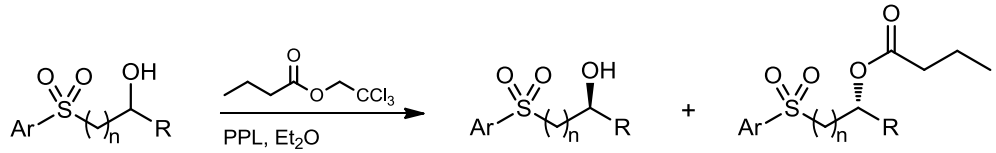
Os álcoois com configuração oposta, os (*R*)-**17a-c** foram obtidos quando foram empregados os fungos *Geotrichum candidum* ou *Mortierelle isabellina* (linhas 3,4 e 8).[39]

Tabela 1.4. Biorredução das hidroxi-alquilsulfonas **16a-c** mediada por diferentes microorganismos



#	substrato	R	n	microorganismo	ee (%)	rend. (%)
1	**16a**	Me	1	*S. cerevisiae*	>95 (*S*)	99
2	**16a**	Me	1	*C. equi*	>95 (*S*)	89
3	**16a**	Me	1	*G. candidum*	>95 (*R*)	80
4	**16b**	Me	2	*M. isabellina*	16 (*R*)	100
5	**16b**	Me	2	*A. niger*	>95 (*S*)	50
6	**16b**	Me	2	*S. cerevisiae*	> 95 (*S*)	80
7	**16c**	Et	2	*S. cerevisiae*	64 (*S*)	27
8	**16c**	Et	2	*M. isabellina*	46 (*R*)	100

A obtenção das hidroxi-alquilsulfonas de maneira enantiosseletiva através de uma resolução cinética enzimática também já foi reportada.[36,40] Como por exemplo, as hidroxi-alquilsulfonas (*RS*)-**17a-d** foram aciladas enantiosseletivamente pela lipase de pâncreas suíno (PPL), levando a formação dos respectivos produtos acilados (*R*)-**18a-d**, bem como os substratos remanescentes (*S*)-**17a-d** com ee de moderados a bons, como mostrado no Esquema 1.8.



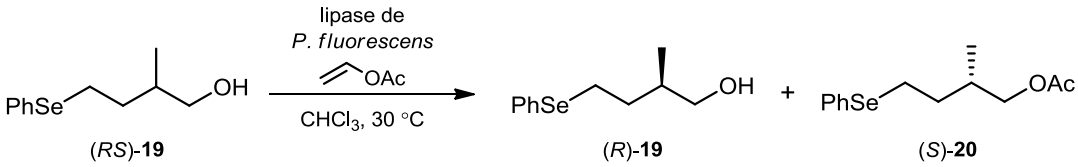
(*RS*)-**17a**, Ar = Ph, R = Me, n =1	(*S*)-**17a**, ee 95%	(*R*)-**18a**, ee 65%
(*RS*)-**17b**, Ar = Ts, R = Me, n =2	(*S*)-**17b**, ee 62%	(*R*)-**18b**, ee 66%
(*RS*)-**17c**, Ar = Ts, R = Et, n =2	(*S*)-**17c**, ee 75%	(*R*)-**18c**, ee 81%
(*RS*)-**17d**, Ar = Ts, R = Me, n =3	(*S*)-**17d**, ee 78%	(*R*)-**18d**, ee 74%

Esquema 1.8. Resolução cinética enzimática das hidroxi-alquilsulfonas (*RS*)**-17a-d**.

1.3.3. Compostos contendo selênio e telúrio

A reatividade dos compostos orgânicos de selênio e telúrio vem sendo extensivamente estudada nos últimos anos devido a sua versatilidade sintética. Compostos de selênio já vêm sendo estudados a um longo tempo e inúmeras reações podem ser realizadas com estes compostos.[41-42] Já os compostos de telúrio destacam-se principalmente pelas reações de transmetalação, sendo utilizados como precursores de compostos organometálicos pela reação de troca Te/Li ou Te/Cu.[43-44] Aliada a aplicabilidade sintética, estes compostos vêm despertando um grande interesse do ponto de vista farmacológico.[45-46]

O primeiro relato do uso de metodologias sintéticas na biotransformação de compostos de selênio foi reportado em 1990.[47] Neste estudo, o hidroxi-seleneto (*RS*)-**19** foi acetilado seletivamente pela lipase de *Pseudomonas fluorescens*, e tanto o produto (*S*)-**20**, quanto o álcool remanescente (*R*)-**19** foram obtidos com excelentes excessos enantioméricos, controlando a conversão da reação (Esquema 1.9).

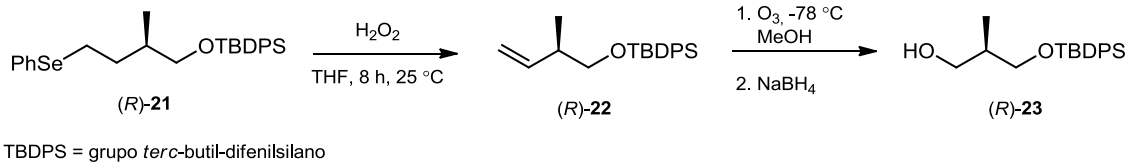


t (h)	c (%)	ee (%) / rendimento (%)	
		(*R*)-**19**	(*S*)-**20**
7	40	–	>98 / 36
15	60	>98 / 38	–

(–) não informado pelos autores

Esquema 1.9. Resolução cinética enzimática do 4-fenilselenil-2-metil-1-butanol (*RS*)-**19** mediada pela lipase de *P. fluorescens*.

A aplicabilidade da metodologia frente a este substrato foi mostrada com a síntese do composto (*R*)-**23** pela reação de oxidação do composto (*R*)-**21** seguido pela reação de ozonólise do composto (*R*)-**22** (Esquema 1.10).

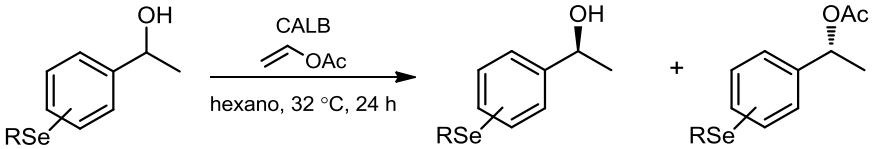


Esquema 1.10. Síntese do composto (R)-**23** a partir do substrato enantiopuro (R)-**21**.

Posteriormente, as reações de biotransformação envolvendo compostos de selênio e telúrio como substratos foram mais intensivamente exploradas por pesquisadores brasileiros.[48]

Um grande número de exemplos de hidroxi-selenetos e hidroxi-teluretos alifáticos ou cíclicos foram submetidos à resolução cinética enzimática, e tanto o produto acetilado, quanto o álcool remanescente foram obtidos com bons a excelentes excessos enantioméricos.

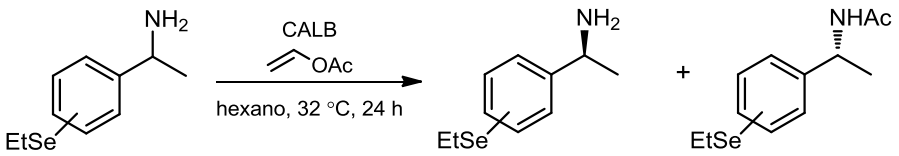
Como por exemplo, pode-se destacar a RCE dos arilselenoetanóis (*RS*)-**24a-f** mediada pela CALB.[49] A resolução dos compostos (*RS*)-**24a-f** ocorreu com excelente enantiosseletividade, e tanto os produtos acetilados (*R*)-**25a-f**, quanto os álcoois remanescentes (*S*)-**24a-f** foram obtidos com excelentes excessos enantioméricos como mostrado no Esquema 1.11.



(*RS*)-**24a**, SeR = 4'-SeEt	(*S*)-**24a**, ee 99%	(*R*)-**25a**, ee 99%
(*RS*)-**24b**, SeR = 4'-SePh	(*S*)-**24b**, ee 99%	(*R*)-**25b**, ee 99%
(*RS*)-**24c**, SeR = 3'-SePh	(*S*)-**24c**, ee 99%	(*R*)-**25c**, ee 99%
(*RS*)-**24d**, SeR = 2'-SePh	(*S*)-**24d**, ee 99%	(*R*)-**25d**, ee 88%
(*RS*)-**24e**, SeR = 2'-SeEt	(*S*)-**24e**, ee 99%	(*R*)-**25e**, ee 99%
(*RS*)-**24f**, SeR = 2'-SeMe	(*S*)-**24f**, ee >99%	(*R*)-**25f**, ee 97%

Esquema 1.11. RCE dos arilselenoetanois (*RS*)-**24a-f**.

Um estudo para encontrar a melhor lipase para resolução cinética de aminas quirais contendo selênio foi realizado recentemente em nosso laboratório.[50] Das lipases avaliadas a CALB foi a que mostrou a melhor atividade e enantiosseletividade. Como pode ser observado no Esquema 1.12, a RCE das aminas contendo selênio (*RS*)-**26a** e (*RS*)-**26b**, utilizando acetato de etila como reagente doador de acila, levou a formação do produto acetilado com altos excessos enantioméricos.



(*RS*)-**26a**, 4'-SeEt
(*RS*)-**26b**, 3'-SeEt
(*RS*)-**26c**, 2'-SeEt

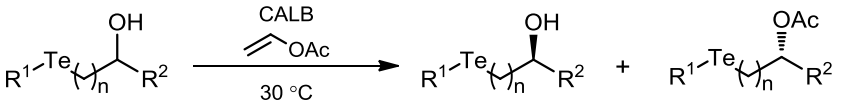
(*S*)-**26a**, ee 22%
(*S*)-**26b**, ee 38%
(*S*)-**26c**, ee 8%

(*R*)-**27a**, ee 99%
(*R*)-**27b**, ee 99%
(*R*)-**27c**, ee 98%

Esquema 1.12. RCE das arilselenoaminas (*RS*)-**26a-c**

Já quando foi empregada a amina (*RS*)-**26c**, que possui o grupo etilselenoíla ligado na posição 2 do anel aromático, foi observada uma baixa conversão da reação. Isto pode ser atribuído a interação entre os átomos de selênio e nitrogênio, o que não acontece quando o átomo de selênio está nas posições *meta* ou *para*.

Um exemplo de uma metodologia enzimática aplicada a compostos contendo telúrio é a RCE dos hidroxi-teluretos (*RS*)-**28a-c**.[51] Através da acetilação enantiosseletiva mediada pela CALB é possível realizar a resolução dos hidroxi-teluretos (*RS*)-**28a-c** com excelente conversão (*c* = 50%), e tanto os produtos acetilados (*R*)-**29a-c**, bem como os álcoois que não reagiram (*S*)-**28a-c** foram obtidos com excelentes excessos enantioméricos. (Esquema 1.13).



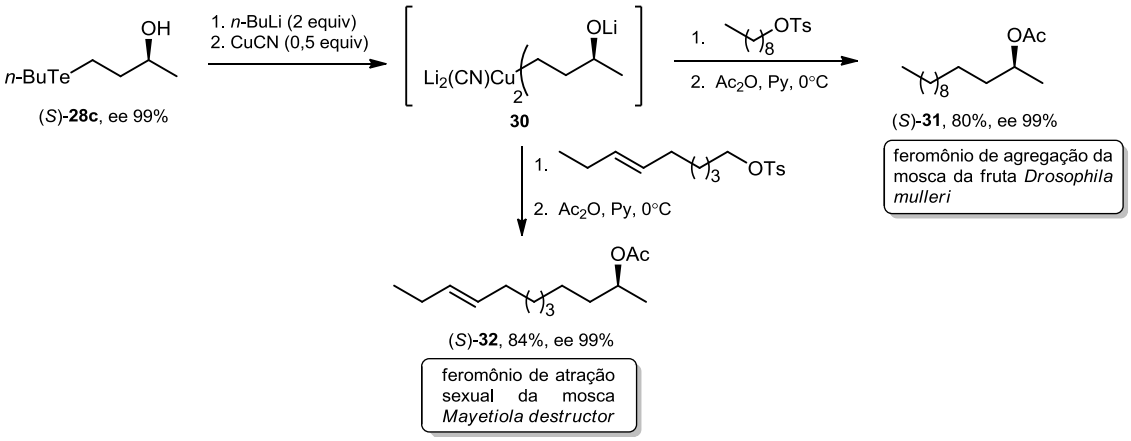
28a, R^1= Ph, R^2 = Me, n = 1
28b, R^1= *n*-Bu, R^2 = Me, n = 1
28c, R^1= *n*-Bu, R^2 = Me, n = 2

(*S*)-**28a**, ee >98%
(*S*)-**28b**, ee 97%
(*S*)-**28c**, ee 97%

(*R*)-**29a**, ee 98%
(*R*)-**29b**, ee >99%
(*R*)-**29c**, ee 99%

Esquema 1.13. RCE dos hidroxi-teluretos (*RS*)-**28a-c**.

Utilizando da reatividade química dos compostos de telúrio, o hidroxi-telureto enantiomericamente puro (*S*)-**28c** foi empregado como precursor na síntese de feromônios de insetos como mostrado no Esquema 1.14.[52] O hidroxi-telureto (*S*)-**28c** foi transformado no cianocuprato de ordem superior **30** através da reação com *n*-BuLi, seguida da adição de CuCN. A reação do intermediário **30** com tosilatos alquílicos levou a formação dos produtos naturais (*S*)-**31** e (*S*)-**32**.



Esquema 1.14. Emprego do hidroxi-telureto (*S*)-**28c** obtido via RCE na síntese de compostos naturais.

Nestes trabalhos os autores relatam que a presença do átomo de selênio ou telúrio não inativam as enzimas empregadas na biotransformação e que as enzimas são capazes de realizar transformações químicas em grupos funcionais presentes nesses compostos sem alterar ou reagir com o calcogênio.

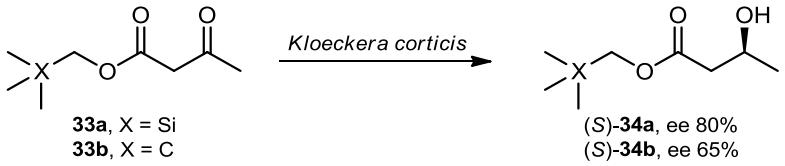
1.3.4. Compostos contendo silício

Embora o silício seja o segundo elemento mais abundante na crosta terrestre, compostos químicos que contenham a ligação carbono-silício ou carbono-heteroátomo (com exceção do oxigênio) não são encontradas na natureza. Entretanto, os compostos orgânicos sintéticos contendo silício são amplamente empregados em química orgânica, seja na forma de grupos protetores,[53] ou como indutores quirais em síntese assimétrica.[54]

Devido ao maior raio átomo e a menor eletronegatividade do átomo de silício, alguns compostos de silício apresentam uma melhor bioatividade do que seus análogos de carbono. Assim, a substituição de um determinado átomo de carbono pelo átomo de silício pode ser uma estratégia interessante no desenvolvimento de novas moléculas bioativas.[55]

Um grande número de exemplos de biotransformações envolvendo organosilanos tem sido reportadas na literatura, sendo que em alguns casos foram realizados estudos comparativos entre os substratos contendo silício e os análogos de carbono. [56]

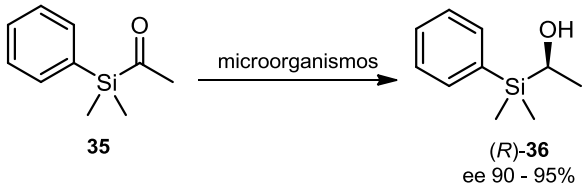
Em 1983, foi reportado o primeiro estudo biocatálitico com compostos de silício, aonde foi descrita a biorredução do acetoacetato de trimetilsilialquila **33a** ao correspondente hidroxi-acetato (*S*)-**34a** empregando células da bactéria *Kloeckera corticis*. Neste trabalho, foi avaliado também o análogo de carbono **33b**, e foi observado que o análogo de silício foi obtido com excesso enantiomérico de 80%, enquanto que o análogo de carbono foi obtido com ee de 65% (Esquema 1.15).[56]



Esquema 1.15. Diferença na enantiosseletividade da biorredução dos análogos de Si (**33a**) e C (**33b**).

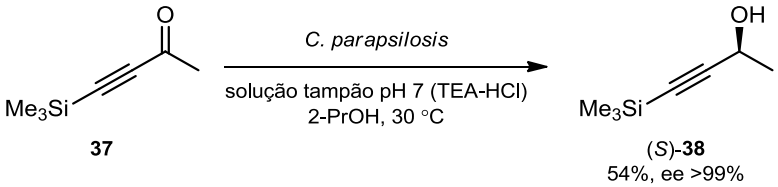
Após este primeiro relato, inúmeros trabalhos mostraram que diferentes culturas de microorganismos poderiam realizar a biorredução enantiosseletiva de cetonas contendo grupamentos trialquilsilila.

Em um trabalho publicado por Sydltak e colaboradores,[57] foram avaliados 30 cepas de diferentes microorganismos na biorredução do acetildimetilfenilsilano **35**. Dentre os microorganismos avaliados, as bactérias *Acinetobacter calcoaceticus*, *Brevibacterium species, Corynebacterium dioxydans,* a levedura *Candida humicola* e o fungo *Cunninghamella elegans* promoveram a biorredução do composto **35** com grande eficiência levando ao produto (*R*)-(1-hidroxietil)dimetilfenilsilano (*R*)-**36** com excessos enantiomericos entre 90 e 95% (Esquema 1.16).



Esquema 1.16. Redução enantiosseletiva do acetildimetilfenilsilano por microorganismos.

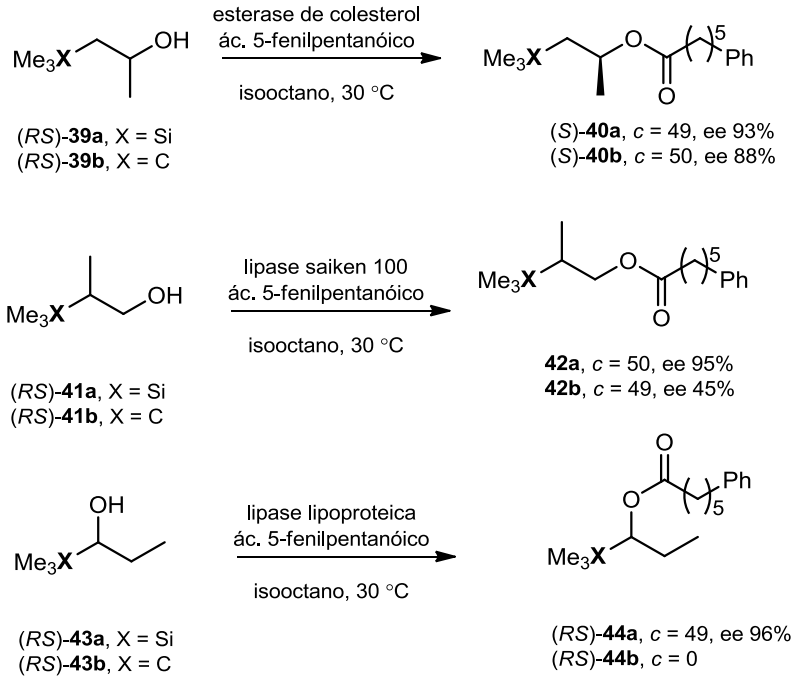
Em uma abordagem mais recente,[58] a síntese do álcool (*S*)-4-(trimetilsilil)-3-butin-2-ol [(*S*)-**38**], intermediário síntético para a preparação de um inibidor da 5-lipoxigenase, foi realizada através da biorredução do organosilano 4-(trimetilsilil)-3-butin-2-ona (**37**) empregando células imobilizadas de *Candida parapsilosis*. O produto da biorredução (*S*)-**38** foi obtido com excelente ee (>99%) como mostrado no Esquema 1.17.



Esquema 1.17. Redução assimétrica da cetona contendo silício **37** por células imobilizadas de *C. parapsilosis*.

Um estudo sistemático envolvendo a esterificação estereosseletiva de três diferentes isômeros do trimetilsililpropanol, o 1-trimetilsili-2-propanol (**39a**), o 2-trimetilsilil-1-propanol

(**41a**) e o 2-trimetilsilil-1-propanol (**43a**), foi realizado com cinco tipos de hidrolases.[59] Neste estudo, foi observado que as hidrolases propiciaram a reação de esterificação dos três isômeros com o ácido 5-fenilpentanóico com alta enantiosseletividade, incluindo o isômero β-hidroxi-alquilsilano **41a** o qual pode ser facilmente convertido ao respectivo alceno pelo mecanismo de β-eliminação, tanto em meio ácido quanto alcalino. (Esquema 1.18). Adicionalmente, foi realizada nas mesmas condições reacionais a acilação dos análogos de carbono **39b**, **41b** e **43b**, e observou-se que o átomo de silício levou a um ligeiro aumento da enantiosseletividade.



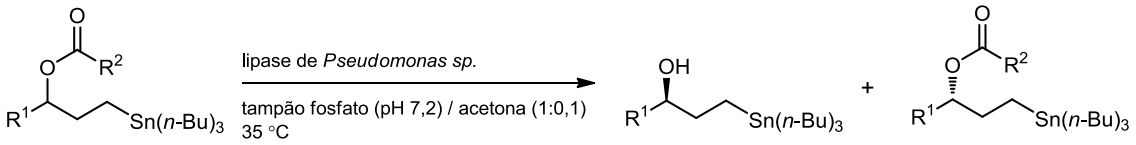
Esquema 1.18. Acilação enantiosseletiva dos isômeros do trimetilsililpropanol e seus análogos de carbono.

1.3.5. Compostos contendo estanho

Organoestananas são espécies químicas bastante empregadas em síntese orgânica, e são principalmente empregadas como substratos na reação de acoplamento com haletos ou triflatos de vinila ou arila catalisada por paládio, conhecida como reação de Stille.[60-61]

O emprego de metodologias enzimáticas para a obtenção de organoestananas quirais ainda não foram extensivamente exploradas, e os poucos exemplos encontrados na literatura foram reportados pelo grupo do pesquisador japonês Toshiyuki Itoh.[62-66] Estes estudos baseiam-se na reação de hidrólise de ésteres derivados de álcoois quirais contendo o grupamento tributilestanho.

Um dos primeiros estudos realizados envolve a hidrólise enantiosseletiva dos ésteres derivados das γ-hidroxi-estananas (*RS*)-**45a-d** mediada pela lipase de *Pseudomonas sp.*[62-63] As γ-hidroxi-estananas (*RS*)-**46a,c,d** foram obtidas com alta enantiosseletividade, com exceção do composto (*RS*)-**45b** (Esquema 1.19).

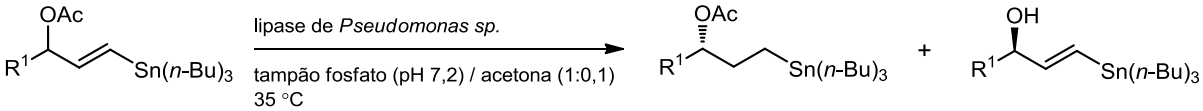


(*RS*)-**45a**, R^1 = Me, R^2 = Me
(*RS*)-**45b**, R^1 = Et, R^2 = Me
(*RS*)-**45c**, R^1 = *n*-C_5H_{11}, R^2 = CH_2SPh
(*RS*)-**45d**, R^1 = *n*-C_8H_{17}, R^2 = CH_2OPh

(*R*)-**46a**, *c* = 50%, ee >98%
(*R*)-**46b**, *c* = 49%, ee 21%
(*R*)-**46c**, *c* = 41%, ee >98%
(*R*)-**46d**, *c* = 50%, ee >98%

Esquema 1.19. Hidrólise enantiosseletiva de ésteres derivados das γ- hidroxi-estananas (*RS*)-**45a-d**.

Os ésteres das γ-hidroxi-vinilestananas (*RS*)-**47a-c** também foram empregados como substratos na reação de hidrólise enantiosseletiva catalisada pela lipase de *Pseudomonas sp.* (Esquema 1.20).[64]



(*RS*)-**47a**, R_1 = C_5H_{11}
(*RS*)-**47b**, R_1 = C_8H_{17}
(*RS*)-**47c**, R_1 = CH_2CH_2Ph

(*S*)-**47a**, ee >98%
(*S*)-**47b**, ee >98%
(*S*)-**47c**, ee 11%

(*R*)-**48a**, c = 50%, ee >98%
(*R*)-**48b**, c = 50%, ee >98%
(*R*)-**48c**, c = 10%, ee 98%

Esquema 1.20. Resolução cinética dos ésteres das γ-hidroxi-vinilestananas (*RS*)-**47a-c** pela hidrólise enantiosseletiva mediada pela lipase de *Pseudomonas sp.*

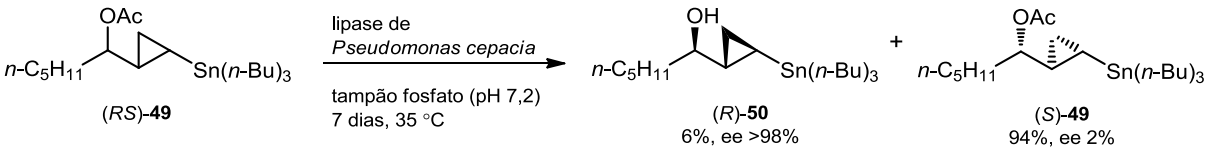
A reação de RCE dos compostos (*RS*)-**47a** e (*RS*)-**47b** ocorreram com alta enantiosseletividade, e tanto os produtos de hidrólise quanto os ésteres que não reagiram foram obtidos com altos excessos enantioméricos (ee >98%). Já para o composto (*RS*)-**47c**, também foi possível obter o produto de hidrólise (*RS*)-**48c** com alta enantiosseletividade (ee 98%), entretanto, este foi obtido com apenas 10% de conversão. Mesmo o emprego de maiores quantidades de enzima e longos tempos reacionais não levaram a um aumento da conversão.

As γ-hidroxi-vinilestananas, como por exemplo o composto **48a**, são empregadas como intermediários sintéticos na síntese de prostanglandinas.

Nestes estudos foi avaliada também a resolução cinética da ciclopropil-estanana (*RS*)-**49**.[66] Os autores comentam que mesmo sabendo que compostos que apresentam o

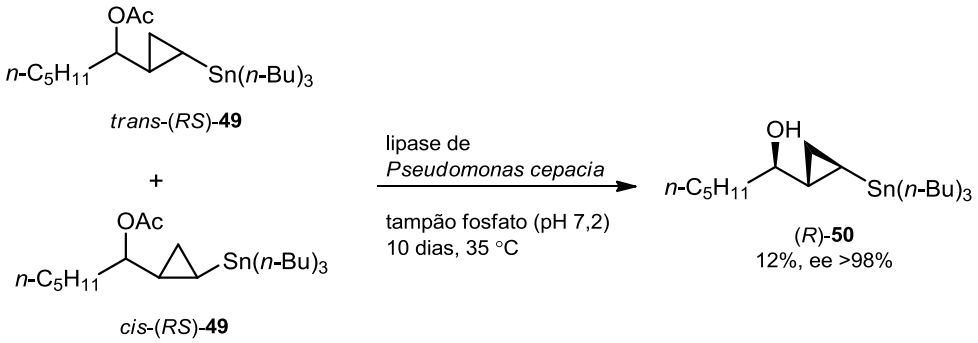
grupamento ciclopropila podem atuar como inibidores enzimáticos, a preparação desta classe de compostos em sua forma enantiopura é importante uma vez que estes compostos podem ser empregados em reações *homo-coupling*, levando a formação de bis-ciclopropanos. Este tipo de estrutura é encontrado em compostos que apresentam atividade biológica.

Para o composto (*RS*)-**49**, a lipase de *P. cepacia* (PCL) mostrou a melhor seletividade, realizando a hidrólise do (*RS*)-**49** ao correspondente álcool (*R*)-**50** com alta enantiosseletividade (ee >98%), porém com baixa conversão (Esquema 1.21). Como já previsto, os autores postulam que a baixa conversão observada é devido ao produto formado, que estaria inibindo a ação catalítica da enzima.



Esquema 1.21. Hidrólise enantiosseletiva do álcool ciclopropílico contendo estanho (RS)-**49** mediada pela lipase de *P. cepacia*.

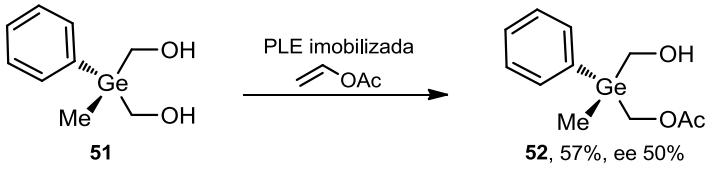
Os autores também observaram que além de enantiosseletiva, a reação enzimática é estereoespecifica. Quando uma mistura 1:1 dos isômeros *trans*-(*RS*)-**49** e *cis*-(*RS*)-**49** foi submetido a reação de resolução apenas o álcool (*R*)-**50** (ee >98%) foi obtido com 12% de rendimento após 10 dias de reação.



Esquema 1.22. Hidrólise estereosseletiva do composto *trans*-(*RS*)-**49**.

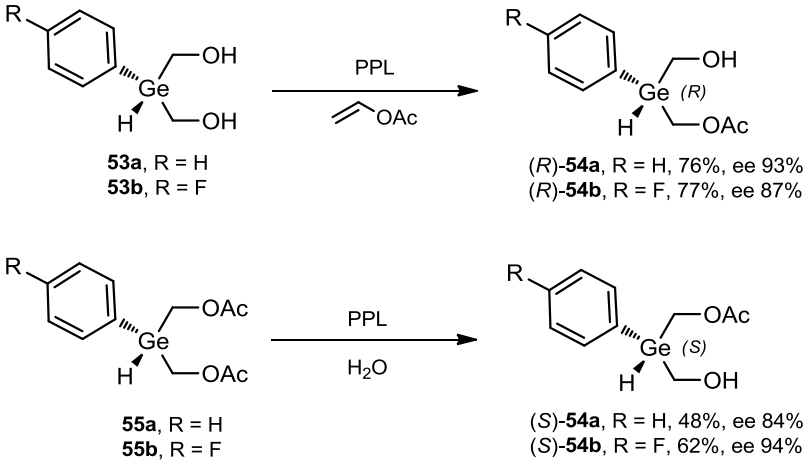
1.3.6. Compostos contendo germânio

Em relação aos compostos contendo germânio, somente dois exemplos foram descritos na literatura, em que são empregadas metodologias enzimáticas para a dessimetrização de substratos pró-quirais, onde o centro estereogênico está presente no átomo de germânio.[67-68] No primeiro exemplo reportado, os autores empregaram uma esterase de fígado suíno (PLE = *pig liver esterase*) para promover a esterificação regiosseletiva do bis(hidroximetil)metil-fenilgermânio **51**. Neste trabalho, acetato de vinila foi utilizado tanto como doador de acila e solvente, e o composto de germânio opticamente ativo **52** foi obtido com 57% de rendimento, e apenas 50% de excesso enantiômerico (Esquema 1.23).[67]



Esquema 1.23. Primeiro exemplo de uma acilação regiosseletiva de compostos organogermânicos.

Os mesmos autores reportaram em um segundo trabalho[68] a acetilação regiosseletiva dos bis(hidroximetil)fenilgermanios **53a,b** bem como a hidrólise estereosseletiva dos correspondentes acetatos **55a,b**. Em ambos os métodos a lipase de pâncreas suíno (PPL = *porcine pancreatic lipase*) foi utilizada, levando a formação dos produtos com rendimentos e excessos enantioméricos superiores do que os observados no primeiro trabalho (Esquema 1.24).



Esquema 1.24. Acetilação e hidrólise de organogermânicos pró-quirais mediada pela lipase de pâncreas suíno (PPL).

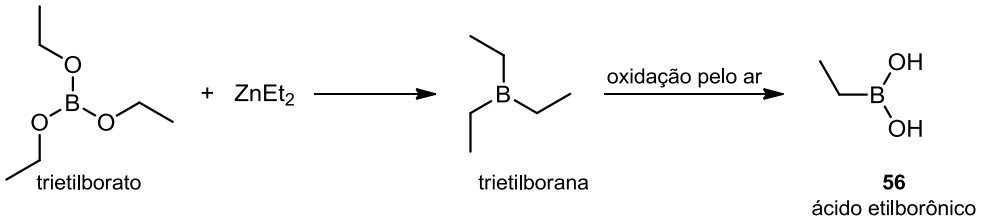
Embora existam apenas estes dois estudos, eles demonstram que metodologias enzimáticas podem ser importantes ferramentas para a obtenção de compostos organogermânicos opticamente ativos. Embora que compostos quirais de germânio ainda não tenham sido estudados com maior profundidade, alguns estudos farmacológicos mostram que sistemas biológicos podem fazer distinção entre os enantiômeros.[69]

1.4. Compostos orgânicos contendo boro: preparação, aplicações sintéticas e atividade biológica

1.4.1. Preparação e aplicação sintética de compostos de boro

Nos últimos anos, compostos orgânicos contendo boro tem se destacado e chamado a atenção da comunidade científica pela versatilidade que estes possuem como intermediários sintéticos. Estes compostos podem ser empregados em diferentes tipos de reações químicas, e comumente são utilizados na forma de ácidos borônicos e seus derivados ésteres[70] ou como organotrifluoroboratos de potássio.[71-74] Além disto, as propriedades químicas do átomo de boro presente nos ácidos e ésteres borônicos fazem com que muitos destes compostos possam apresentar atividade biológica.[70]

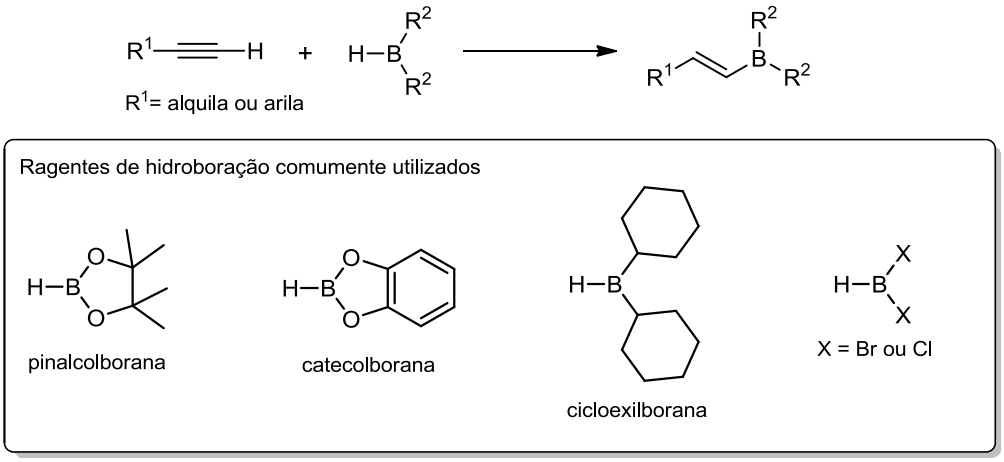
A síntese do primeiro composto orgânico de boro, o ácido etilborônico (**56**), foi reportada por Frankland e Duppa[75] em 1860 (Esquema 1.25). Entretanto somente a partir da década de 1970, que o interesse pela química desta classe de compostos, bem como novas e eficientes metodologias para sua preparação, passaram a ser exploradas com mais intensidade.



Esquema 1.25. Síntese do ácido etilborônico reportado em 1860 por Frankland e Duppa.

O desenvolvimento da reação de hidroboração pelos químicos Herbert C. Brown e Subba Rao[76] trouxe uma grande contribuição para a química orgânica sintética, e é umas das principais metodologias para a obtenção desta classe de compostos.[70,77-79]

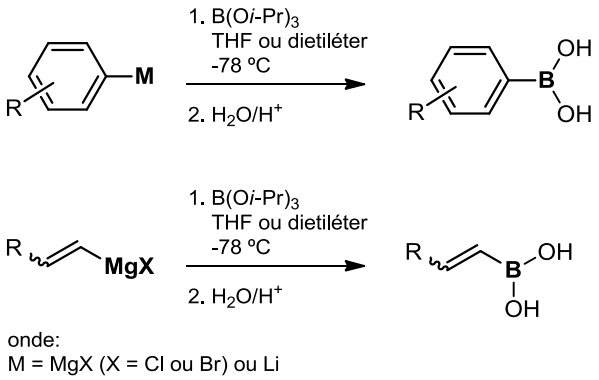
A hidroboração de alcinos terminais leva a formação de alquenilborônicos de configuração-(*E*) com alta estereosseletividade, com a adição do átomo de boro no carbono terminal. Uma diversidade de boranas pode ser empregada para este propósito (Esquema 1.26). A hidroboração de alcinos internos usualmente leva à formação de uma mistura de regioisômeros.



Esquema 1.26. Esquema geral de uma reação de hidroboração de alcinos terminais.

Enquanto a hidroboração de acetilenos ocorre em condições brandas, a hidroboração de alcenos com boranas como a pinacolborana ou catecolborana para a formação dos correspondentes ésteres alquilborônicos necessita de condições mais drásticas como maior temperatura ou tempo reacional. Entretanto reações catalisadas por complexos de ródio,[80] níquel[81] ou paládio[82] possibilitam a formação de alquilboranas em condições reacionais brandas, com rendimentos satisfatórios e com alta seletividade.

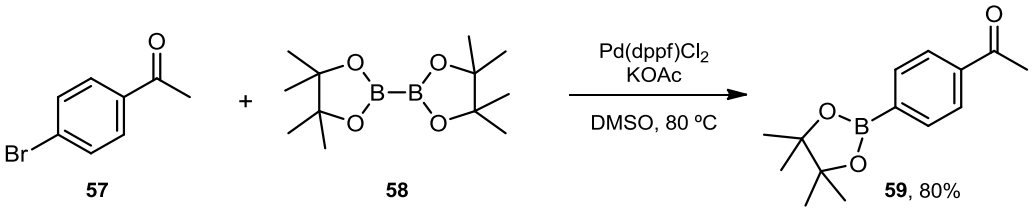
Já os ácidos arilborônicos, bem como ácidos alquenilborônicos, podem ser facilmente preparados a partir dos correspondentes reagentes de Grignard ou lítio (Esquema 1.27). A reação entre estes reagentes organometálicos com trialquilboratos com subsequente hidrólise do éster formado leva à formação dos ácidos borônicos de uma maneira relativamente simples, podendo ser produzido em grandes quantidades.



Esquema 1.27. Metodologia comumente empregada para a preparação de ácidos aril- e alquenilborônicos.

Posteriormente, a esterificação dos ácidos borônicos com diferentes álcoois ou dióis pode ser facilmente realizada. O processo de esterificação é uma reação em equilíbrio, e a formação do éster é favorecida pela remoção da água formada, que pode ser através de uma destilação azeotrópica ou pelo emprego de agentes desidratantes como peneira molecular ou $MgSO_4$.

Um segundo método bastante empregado para a obtenção de ésteres arilborônicos é a reação de borilação de Miyaura, que consiste de um acoplamento cruzado entre o dímero da pinacolborana, o bis(pinacolato)diborana (B_2pin_2), com haletos[83] ou triflatos[84] de arila, catalisado por complexos de Paládio, como exemplificado no Esquema 1.28 através da reação da 4'-bromoacetofenona (**57**) e B_2pin_2 (**58**), levando a formação do éster pinacólico do ácido 4-acetilfenilborônico (**59**).



Esquema 1.28. Preparação de ésteres borônicos através da reação de borilação de Miyaura.

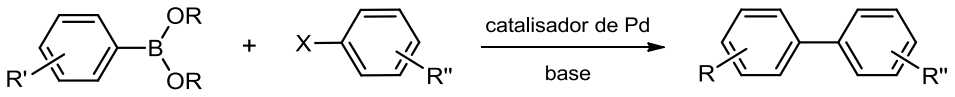
Através desta metodologia, a qual emprega condições brandas, uma variedade de ésteres aril e heteroarilborônicos contendo grupos funcionais como cetona, éster, nitrila ou nitro como podem ser obtidos sem a necessidade de proteção destes grupos.

Algumas características intrínsecas a esta classe de compostos os tornaram extremamente atrativos quando comparados a outros reagentes organometálicos. Em geral, estes compostos apresentam-se como sólidos cristalinos e podem ser facilmente manipulados na presença do oxigênio e da umidade atmosférica. Podem ser armazenados por um longo período de tempo, e apenas em alguns casos podem sofrer degradação pela

oxidação do ar. Além disto, apresentam relativa não-toxicidade assim como os subprodutos gerados após a reação.

Ácidos borônicos e seus derivados ésteres ou trifluoroboratos de potássio são os principais componentes da reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura. Esta reação, desenvolvida no final da década de 1970, é atualmente uma das mais importantes metodologias empregadas na formação de ligações carbono-carbono.

A reação envolve o uso de complexos de paládio para mediar a reação de acoplamento entre diferentes organoborônicos com uma variedade de reagentes contendo centros eletrófílicos (Esquema 1.29).[85-86]



Esquema 1.29. Reação de acoplamento cruzado do tipo Suzuki-Miyaura catalisada por paládio.

Devido as condições reacionais brandas e a tolerância a diferentes grupos funcionais, esta reação vem sendo frequentemente empregada na síntese de produtos naturais, e foi introduzida com sucesso na indústria, principalmente na indústria farmoquímica.[87] Como por exemplo, o fármaco valsartana utilizado para o controle de hipertensão arterial e o pesticida boscalida mostrados na Figura 1.4.

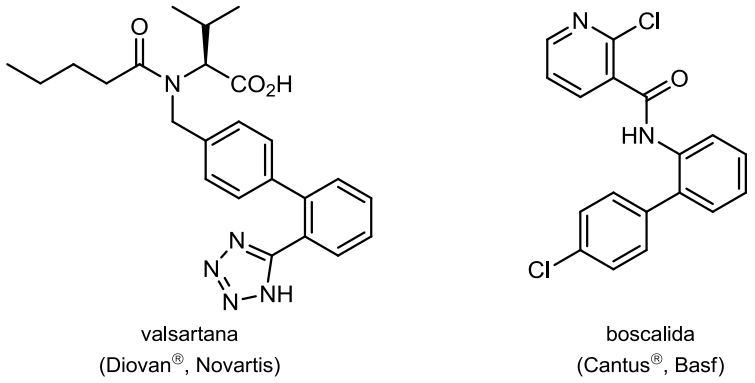


Figura 1.4. Estruturas biarilicas obtidas através da reação de acoplamento.

Devido a versatilidade sintética desta reação, e pela possibilidade de ser realizada em uma escala industrial, o pesquisador japonês Akira Suzuki foi um dos agraciados com prêmio Nobel de Química no ano de 2010. O Nobel de química foi compartilhado também pelos pesquisadores Richard F. Heck e Ei-ichi Negishi por suas pesquisas em reações de acoplamento catalisadas por paládio.[88]

Além das reações de acoplamento, os compostos de boro são empregados com sucesso em inúmeras outras reações, como por exemplo, na reação de acoplamento carbono-heteroátomo (O ou N) catalisada por sais de cobre, em reações de Diels-Alder, na síntese assimétrica de aminoácidos, na redução seletiva de cetonas e aldeídos, na química de polímeros entre outras aplicações.[70]

1.4.2. Atividade biológica dos compostos de boro

Na natureza, compostos de boro encontram-se principalmente na forma de óxidos, sendo mais comumente encontrados na forma de ácido bórico.[70] Até o momento não são conhecidos compostos naturais contendo a ligação carbono-boro, entretanto, é conhecida a ocorrência de ésteres borônicos como parte estrutural de moléculas naturais, como por exemplo, a boramicina o qual é isolada da bactéria *Streptomyces antibioticus,* que além da atividade antibiótica, apresenta atividade anti-HIV (Figura 1.5).[89] Estes ésteres também são responsáveis pela estrutura das paredes celulares de plantas, realizando ligações cruzadas entre cadeias de polissacarídeos [90-91]

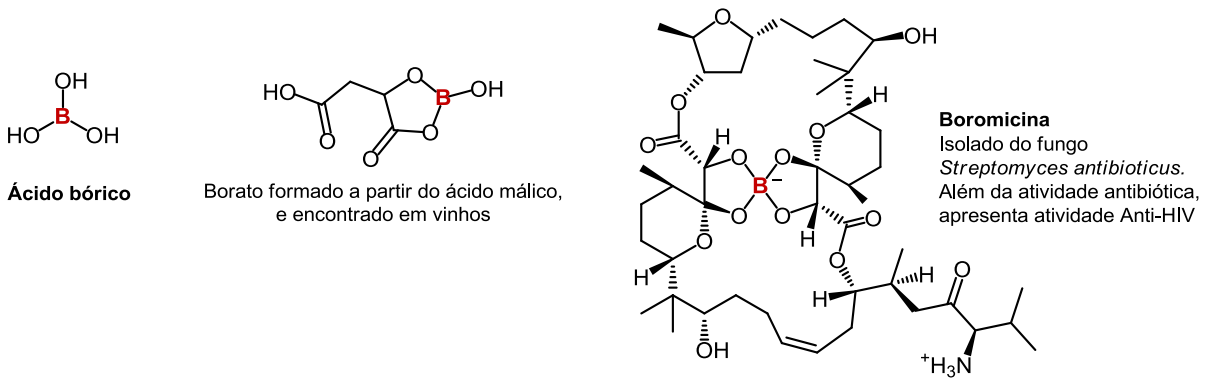
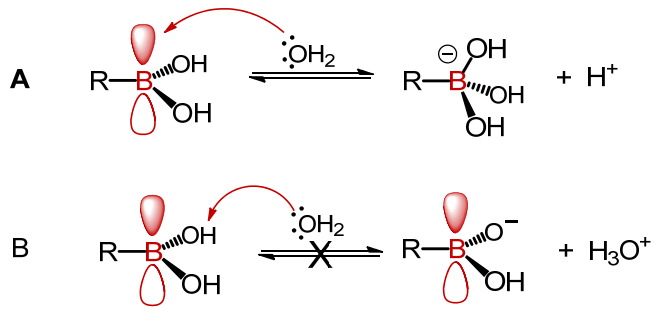


Figura 1.5. Compostos contendo o átomo de boro em sua estrutura e que são encontrados na natureza.

Como não são conhecidas rotas biossintéticas para a formação de ligações carbono-boro, pode não haver enzimas que metabolizem tais compostos. Tal circunstância pode representar uma vantagem na utilização destas moléculas como agentes terapêuticos.

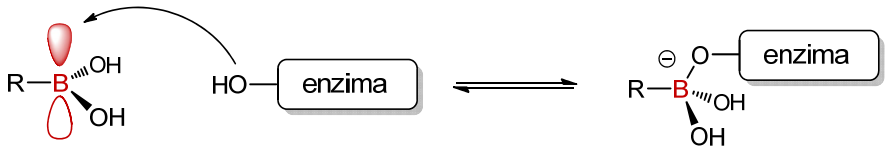
Embora nos ácidos borônicos há a existência de duas hidroxilas, estes compostos não apresentam a característica de um ácido de Bronsted. Uma vez que o átomo de boro nos ácidos e ésteres borônicos possui uma hibridização sp^2, a presença de um orbital p vazio faz com que estes compostos atuem como ácidos de Lewis (Esquema 1.30).



Esquema 1.30. O equilíbrio de ionização dos ácidos borônicos em água. O átomo de boro com hibridização sp^2 (geometria trigonal planar) passa a apresentar uma hibridização sp^3 com geometria tetraédrica (equação **A**). E a reação do ácido borônico como um ácido de Bronsted o qual não acontece em condições normais.

Com base na reatividade dos ácidos e ésteres borônicos como ácidos de Lewis, os compostos de boro vêm sendo avaliados como inibidores de enzimas hidrolíticas como peptidases e lipases.[92] Os primeiros relatos da inibição de enzimas proteolíticas por ácidos borônicos foram publicados na década de 1970, em que descobriu-se que os ácidos arilborônicos podiam inibir a atividade de enzimas como a quimotripsina e a subtilisina.[93-94]

O processo de inibição ocorre pela interação do orbital p livre do átomo de boro com os grupos nucleofílicos dos aminoácidos presentes no sítio ativo, como a serina, treonina ou cisteína, levando a formação de um complexo tetraédrico como mostrado no (Esquema 1.31).



Esquema 1.31. Formação do complexo boro-enzima.

Devido a essa interessante reatividade, compostos contendo o grupamento ácido borônico foram desenvolvidos para fins terapêuticos. O bortezomibe (Figura 1.6) foi o primeiro composto contendo a função ácido borônico em sua estrutura que foi aprovado para uso medicinal pelo FDA, sendo comercializado pelo nome de Velcade®.[95] O bortezomibe é empregado no tratamento de mieloma múltiplo, que é um câncer que se desenvolve na medula óssea. O alvo de ação do bortezomibe e o proteassoma 26S,[96-98] uma enzima proteolítica presente nas células, o qual é responsável pela degradação de proteínas. O proteassoma é um importante alvo no desenvolvimento de drogas anti-câncer, e a sua inibição leva a morte das células cancerígenas por apoptose.

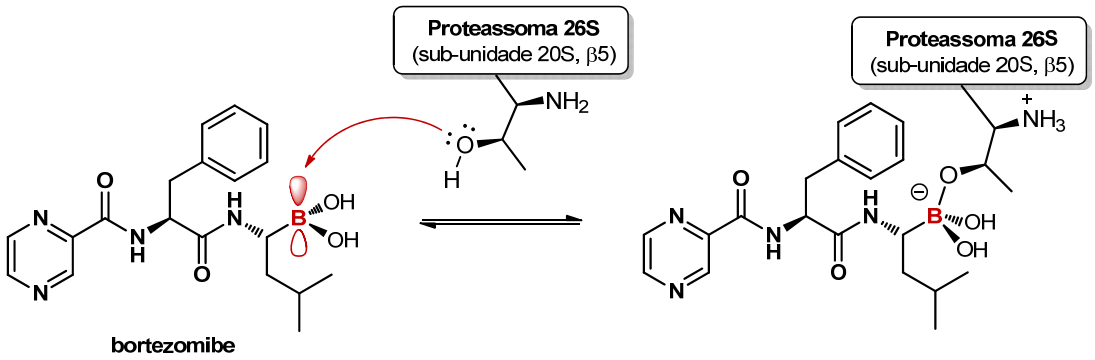


Figura 1.6. Inibição do proteassoma 26S pelo bertezomibe através da complexação do resíduo de treonina presente na sub-unidade β5 com o orbital p do átomo de boro.

Embora o bortezomibe seja o exemplo mais citado quando se comenta sobre inibição enzimática por compostos de boro, vários trabalhos vêm reportando que diferentes ácidos ou ésteres borônicos podem atuar como inibidores enzimáticos. Além disto, outras classes de enzimas, como as glicosiltransferases e lipases,[99-101] também são inibidas por estes compostos.

Ácidos borônicos estruturalmente simples como os derivados do ácido fenilborônico mostraram significante atividade inibitória da lipase de pâncreas suíno. Esta lipase é comumente empregada como biocatalisador na hidrólise enantiosseletiva de ésteres carboxílicos ou na resolução cinética de álcoois através de acilação enantiosseletiva.

2. Objetivos

Compostos orgânicos de boro, mais especificamente os ácidos e ésteres borônicos, são intermediários sintéticos extremamente interessantes devido à reatividade provida pelo átomo de boro, podendo ser aplicados em diferentes reações químicas. Além disto, estes compostos são conhecidos por possuírem atividade inibitória frente a diferentes enzimas.

Assim, devido à importância sintética destes compostos, e mesmo havendo relatos na literatura da atividade inibitória destes compostos, o principal objetivo do estudo realizado durante o doutorado, e apresentado nesta tese, foi estudar a viabilidade de se aplicar metodologias enzimáticas na transformação de compostos contendo o átomo de boro em sua estrutura. Adicionalmente, este estudo não tem somente o objetivo de preparar compostos de boro enantiopuros, mas também obter informações importantes sobre a compatibilidade dos sistemas enzimáticos frente a substratos contendo boro.

Para isso, foi proposta a síntese de álcoois secundários quirais e aminas primárias quirais contendo boro, para serem avaliados como substratos em reações de acilação enantiosseletiva mediada por lipases (resolução cinética enzimática).

Também foi proposta a síntese de cetonas pró-quiras contendo boro para serem avaliadas como substratos em reações de biorredução empregando células de microorganismos ou somente as enzimas álcool desidrogenases e os cofatores.

3. Resolução cinética e resolução cinética dinâmica quimio-enzimática de álcoois secundários contendo boro

3.1. Introdução

3.1.1. Resolução cinética enzimática de álcoois

Dentre as técnicas utilizadas para a separação de racematos, a resolução cinética é um dos métodos mais utilizados, e consiste na separação dos enantiômeros através de uma reação enantiosseletiva, ou seja, apenas um dos enantiômeros será transformado em outro composto. Como já mencionado (item 1.2), isto ocorre devido ao fato que cada um dos enantiômeros possui velocidades diferentes de reação com um reagente quiral. Este reagente quiral pode estar em uma quantidade subestequiométrica e pode ser um catalisador químico[102] ou um biocatalisador (enzima isolada ou microorganismo).

Em uma resolução cinética ideal, apenas um dos enantiômeros participa do ciclo catalítico enzimático. Como por exemplo, se a constante de velocidade do enantiômero-(*R*) é muito superior a constante de velocidade do enantiômero-(*S*) ($k_R >> k_S$), partindo de uma mistura inicial contendo 50% do enantiômero-(*R*) e 50% do enantiômero-(*S*) apenas o primeiro sofreria a reação mediada pela enzima, levando a uma mistura final de 50% do produto de configuração-(*R*) e 50% do reagente inicial de configuração-(*S*) (Figura 3.1).

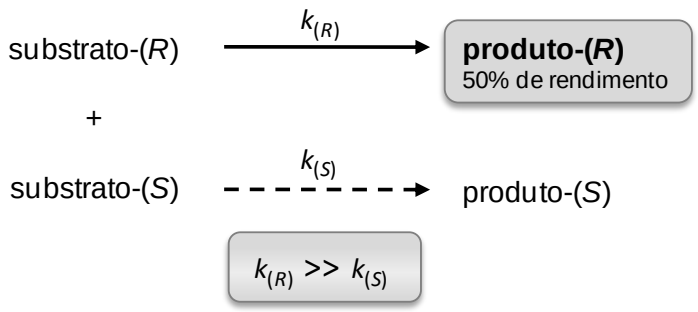


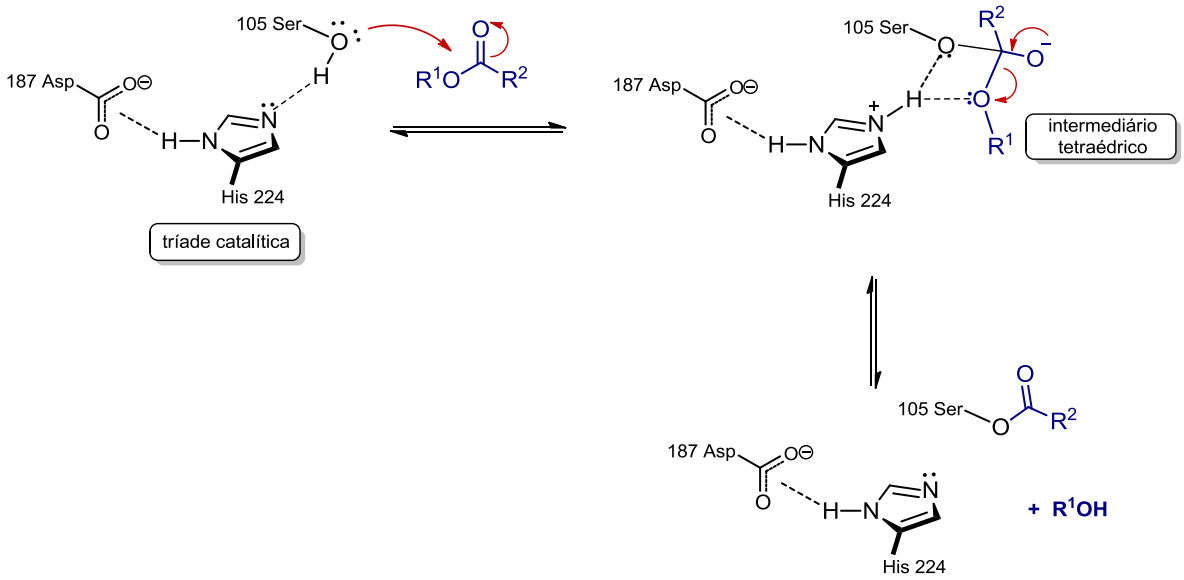
Figura 3.1. Resolução cinética ideal em que apenas um dos enantiômeros é transformado.

Das reações enzimáticas, a resolução cinética de racematos através da acilação enantiosseletiva de álcoois quirais mediadas por lipases é a biotransformação mais estudada.[103-106]

As lipases (triglicerol acil-hidrolases, EC 3.1.1.3)[103-105] são enzimas encontradas em grande parte dos seres vivos como animais, plantas, fungos e bactérias. O sítio ativo das lipases foi naturalmente desenvolvido para a hidrólise de triacilgliceróis, e neste sítio catalítico encontram-se três resíduos de aminoácidos que são responsáveis pelo

mecanismo catálitico. Estes três aminoácidos, que são a serina, a histidina e o ácido aspártico, são conhecidos como tríade catalítica.[107-109]

O arranjo espacial destes três resíduos de aminoácidos no sítio enzimático propicia um decréscimo no pKa da hidroxila da serina, possibilitando um ataque nucleofílico ao carbono carbonílico do substrato, no caso um éster carboxílico (Esquema 3.1).

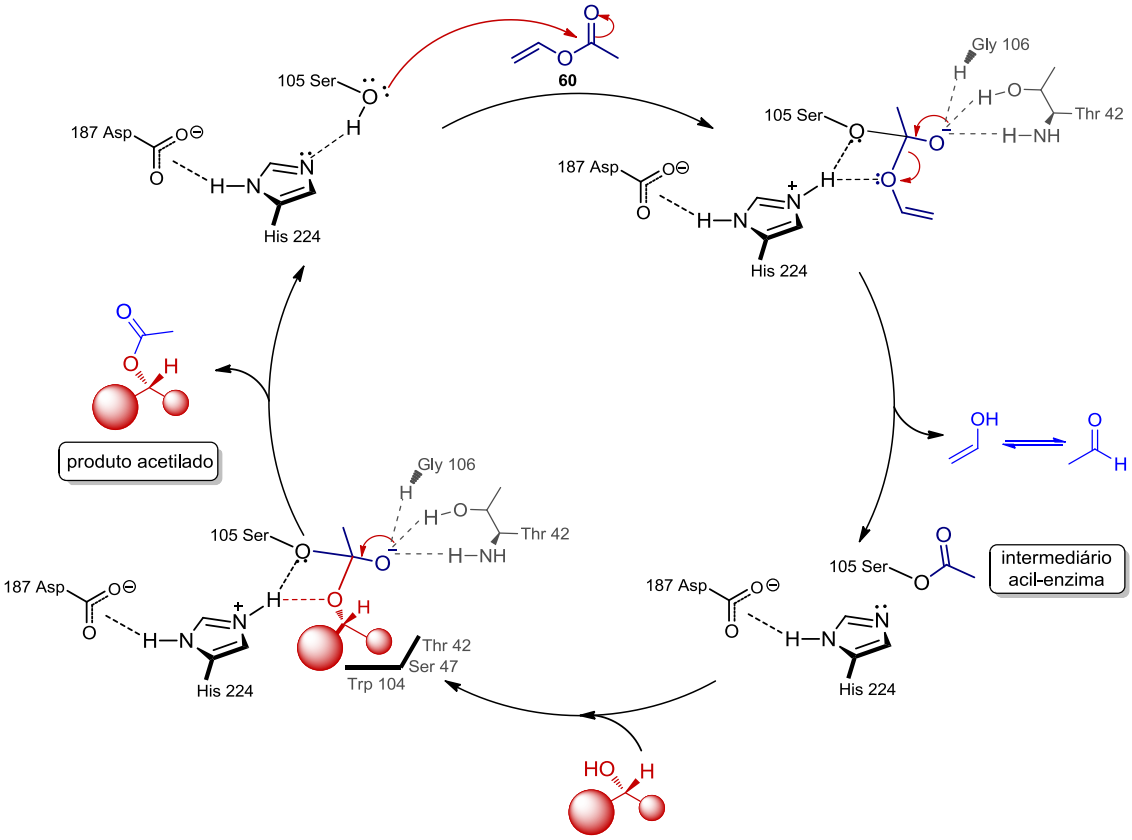


Esquema 3.1. Primeira etapa de hidrólise de um éster carboxílico mediada pela tríade catalítica presente nas lipases. As posições dos resíduos dos aminoácidos que compõe a tríade catalítica são referentes a lipase de *C. antarctica* (CALB).

Uma vez que reações hidrolíticas são reversíveis em meios não aquosos, as lipases podem também catalisar a formação de ésteres a partir de álcoois e um reagente doador de grupamento acila.

Em um ambiente não aquoso, a acilação enantiosseletiva de álcoois secundários quirais ocorre em duas etapas (Esquema 3.2). Na primeira etapa do ciclo catalítico, o grupo hidroxila da serina que está ativado pela histidina, reage com o grupo carbonila do doador de acila, representado no Esquema 3.2 pelo acetato de vinila (**60**), levando a um intermediário conhecido como complexo acil-enzima. A carga negativa gerada no oxigênio carbonílico é estabilizada pela cavidade oxi-iônica. Esta estabilização é proporcionada por ligações de hidrogênio com resíduos de aminoácidos como glicina e treonina. No próximo passo, o intermediário tetraédrico se desfaz, formando o éster derivado da serina e liberando o álcool derivado do doador de acila.

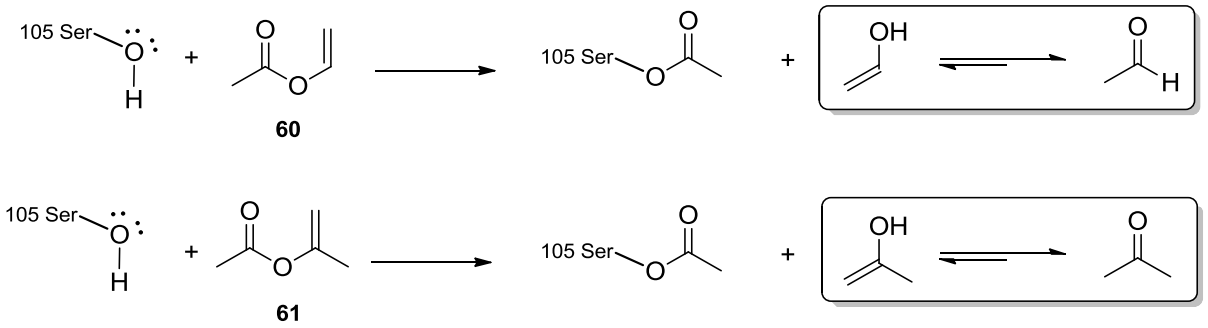
Na segunda etapa, o intermediário acil-enzima e atacado por um nucleófilo, no caso um dos enantiômeros do álcool empregado como substrato, levando a formação do produto acetilado, e restabelecendo a tríade catalítica.



Esquema 3.2. Ciclo catalítico de uma reação de acilação enantiosseletiva de álcoois secundários quirais mediada pela tríade catalítica da lipase de *C. antarctica* (CALB).

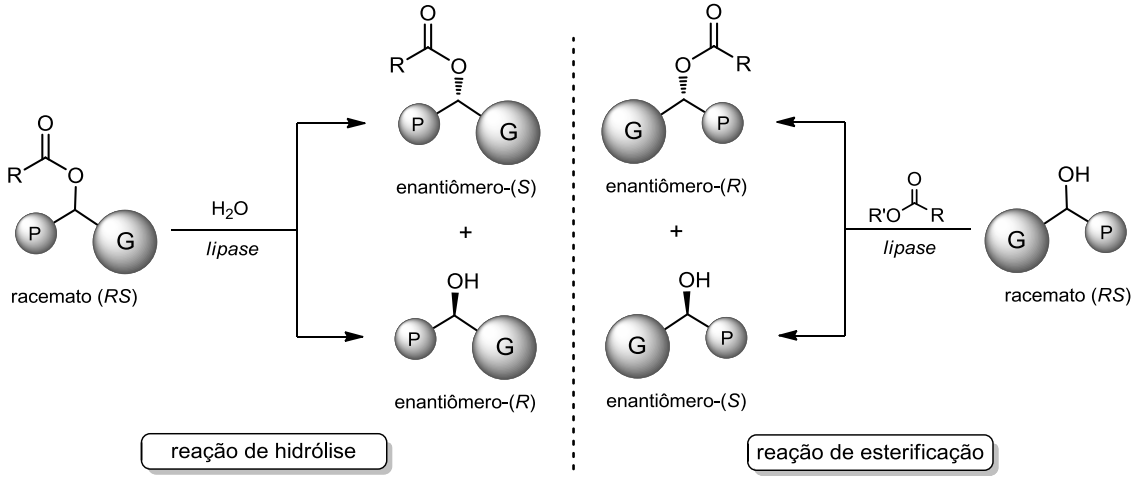
Com relação aos reagentes doadores de grupo acila, espera-se que estes sejam compostos simples, de fácil aquisição e que não reajam espontaneamente com o substrato. É importante também que a reação de transesterificação seja irreversível. Desta forma, para evitar ou minimizar este problema um excesso do doador de acila pode ser empregado, ou o uso de doadores de acila que levem a subprodutos menos nucleofílicos ou que possam ser removidos do meio reacional, e assim deslocando o equilíbrio para a formação do produto.

Os reagentes doadores de acila que são frequentemente empregados nas reações de RCE de álcoois são os ésteres de enoíla, como o acetato de vinila (**60**) e o acetato de isopropenila (**61**). Quando estes doadores de acila são utilizados, os subprodutos resultantes da primeira etapa do ciclo catalítico são álcoois vinílicos (enóis), que tautomerizam aos correspondentes compostos carbonilados (Esquema 3.3).



Esquema 3.3. Reagentes doadores de acila comumente empregados nas reações de RCE e os enóis produzidos como subproduto na primeira etapa da reação enzimática.

Embora não se possa estabelecer o grau de enantiosseletividade de uma lipase frente a uma reação de esterificação de álcoois ou hidrólise dos correspondestes ésteres, existe um modelo empírico que pode predizer a enantiopreferência das lipases frente a determinados substratos. Este modelo, conhecido como regra de Kazlauskas,[110] foi criado a partir de diferentes experimentos realizados pelo grupo de pesquisa de Romas J. Kazlauskas, em que diferentes ésteres de álcoois secundários foram submetidos à reação de hidrólise mediada pela lipase de *Pseudomonas cepacia*. Nestes experimentos observou-se que a lipase de *P. cepacia* catalisava preferencialmente a hidrólise dos ésteres de configuração-(*R*). Embora o trabalho de Kazlauskas e colaboradores tenha sido focado apenas na hidrólise de ésteres, este modelo é atualmente aceito e sustentado por inúmeros trabalhos que posteriormente foram realizados, tanto em relação a hidrólise de ésteres como na acilação de álcoois secundários (Esquema 3.4).



Esquema 3.4. Enantiopreferência em reações enzimáticas de hidrólise e esterificação de álcoois secundários de acordo com o modelo empírico de Kazlauskas.

Posteriormente, com a elucidação da estrutura tridimensional de algumas lipases bem como do sítio catalítico, por técnicas de cristalografia e difração de raios-X, as observações obtidas de forma empírica quanto à enantiosseletividade do sítio catalítico puderam ser atribuídas ao formato do próprio sítio catalítico. Foi observado que o sítio catalítico consiste de duas cavidades de diferentes tamanhos, uma pequena e uma grande. A Figura 3.2 ilustra de uma maneira simplificada a estereosseletividade para os substratos contendo um grupo volumoso e outro pouco volumoso quando acomodados no sítio catalítico.

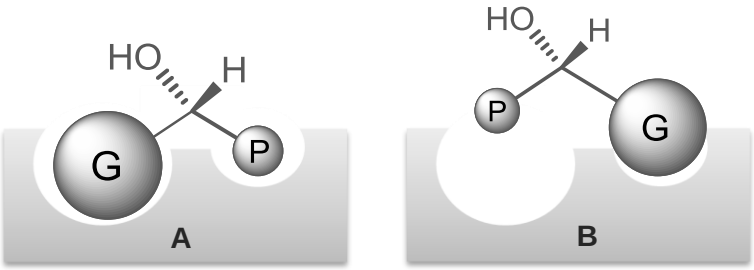


Figura 3.2. Ilustração simplificada das cavidades do sítio catalítico de uma lipase e os enantiômeros de um álcool quiral contendo um grupo volumoso (esfera G) e um grupo pequeno ou menos volumoso (esfera P).

Através deste modelo, pode-se observar que um dos enantiômeros estará mais bem acomodado no sítio ativo (Figura 3.2 - A) do que o segundo enantiômero ativo (Figura 3.2 - B). Isto gera uma diferença entre as energias de transição diasteroméricas ($\Delta\Delta G^{\#}$) entre a enzima e o substrato, e por este motivo, o enantiômero melhor acomodado nas cavidades terá uma velocidade de reação superior ao seu enantiômero oposto.

Um conceito importante, que descreve a seletividade de uma reação de resolução cinética enzimática é a razão enantiomérica ou fator de seletividade (*E*).[111-113] O valor de *E* descreve numericamente o quanto uma reação é seletiva, consequentemente, o quão enantiopuro será o produto formado.

Cineticamente, o valor de *E* é obtido pela razão entre as velocidades de reação de cada enantiômero com a enzima. A reação de cada enantiômero com a enzima forma ambos complexos enzima-substrato, um com cada enantiômero, e pode ser tratada como se fosse uma reação uni-uni (ou seja, que envolve somente um substrato e um produto). Cada constante de velocidade, para uma reação uni-uni, é descrita pelos valores de k_{cat} (número de moléculas convertidas por segundo, por molécula de enzima) e K_M (constante de saturação do substrato) como mostrado na Equação 3.1.

$$E = \frac{v_R}{v_S} = \frac{(k_{cat}/K_M)_R}{(k_{cat}/K_M)_S}$$ **Equação 3.1**

onde: V_R velocidade de reação com o enantiômero-(*R*)

V_S velocidade de reação com o enantiômero-(*S*)

Chen e colaboradores[112] desenvolveram uma equação (Equação 3.2), baseada em reações uni-uni e irreversíveis, que pode ser utilizada para calcular *E* com os valores experimentais de excesso enantiomérico (ee_S ou ee_P) a uma dada fração de conversão (*c*).

$$E = \frac{\ln[(1-c)(1-ee_S)]}{\ln[(1-c)(1+ee_S)]} = \frac{\ln[(1-c)(1-ee_P)]}{\ln[(1-c)(1+ee_P)]}$$ **Equação 3.2**

Os excessos enantioméricos (ee) que aparecem na Equação 3.2 descrevem a pureza enantiomérica de compostos quirais, e são obtidos através da Equação 3.3, onde *R* é a concentração do enantiômero (*R*) e *S* é a concentração do enantiômero (*S*). Assim, para uma mistura racêmica, o valor de ee é zero e, para um composto enantiomericamente puro, é 100%.

$$ee_R(\%) = [(R-S)/(R+S)] \times 100$$ **Equação 3.3**

A conversão da reação (*c*) é definida como a fração de substrato que foi convertido em produto em um determinado tempo, e pode ser calculada a partir dos valores dos excessos enantioméricos (ee) do substrato e do produto (Equação 3.4).

$$c = \frac{ee_S}{ee_S + ee_P}$$ **Equação 3.4**

A obtenção do valor de *E* pode ser simplificada[111] substituindo o termo *c* na Equação 3.2 pelos valores de excesso enantiomérico do substrato e do produto, levando a equação Equação 3.5.

$$E = \frac{\ln\left[\dfrac{1-ee_S}{1+(ee_S/ee_P)}\right]}{\ln\left[\dfrac{1+ee_S}{1+(ee_S/ee_P)}\right]}$$ **Equação 3.5**

Assim, para calcular o valor de *E*, basta medir o excesso enantiomérico do produto formado e do substrato remanescente, que são facilmente obtidos a partir de técnicas cromatográficas, como HPLC ou CG, utilizando-se de uma fase estacionária quiral.

Em termos de valores, uma RCE com *E* <15 é considerado inaceitável, valores de E entre 15 e 30 podem ser considerados de moderados a bons, enquanto um valor de *E* >20, são considerados satisfatórios. Valores de *E* >200 são difíceis de determinar, uma vez que este é determinado em função de uma equação logarítmica, pequenas variações no ee podem causar uma grande variação no valor de *E*.

3.1.2. Resolução cinética dinâmica quimio-enzimática de álcoois

Embora a resolução cinética enzimática seja uma ferramenta bastante útil para a obtenção de ambos estereoisômeros separadamente, com esta técnica somente é possível obter 50% de rendimento do produto enantiomericamente puro. Para que se possa obter um rendimento maior que 50%, o enantiômero que não reagiu deve ser racemizado e submetido novamente as condições de resolução.

Entretanto, se o substrato for rapidamente racemizado, mantendo um equilíbrio dinâmico entre os dois enantiômeros na mistura reacional, é possível obter apenas um produto opticamente puro a partir de uma acilação enantiosseletiva, com rendimento teórico de 100%. Este tipo de processo é chamado de resolução cinética dinâmica (RCD).

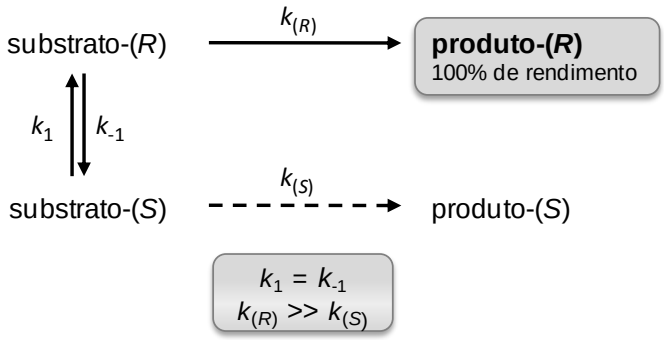


Figura 3.3. Representação esquemática para a resolução cinética dinâmica (RCD)

Em uma RCD de álcoois, a quantidade de ambos os enantiômeros é equilibrada por uma reação redox, enquanto um dos enantiômeros é consumido através de uma acilação enzimática enantiosseletiva. Após a RCD, se desejado, o éster opticamente ativo pode ser hidrolisado obtendo-se o correspondente álcool enantiopuro (Figura 3.4).

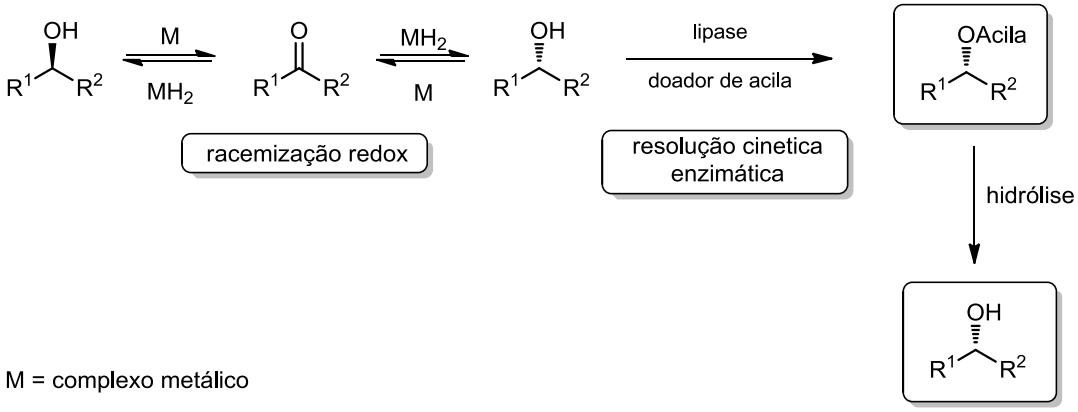


Figura 3.4. Esquema de uma racemização redox de um álcool quiral combinado com uma reação de RCE.

Para que uma RCD seja eficiente, é necessário uma racemização contínua do enantiômero menos reativo, e para isto, há um grande interesse no desenvolvimento de catalisadores que proporcionam esta racemização. Complexos derivados de metais de transição como ródio,[114] paládio,[115-116] alumínio[117] e vanádio[118-119] já foram desenvolvidos para a racemização de álcoois secundários, entretanto, poucos foram empregados com sucesso na presença de uma lipase. Os complexos de rutênio são os mais empregados hoje.

Em 1997, o grupo do pesquisador sueco Jan E. Bäckvall reportou que o complexo de rutênio **62** (Figura 3.5), conhecido como catalisador de Shvo, era compatível com o processo de resolução cinética enzimática mediada pela lipase de *C. Antarctica* (CALB).[120-121] O complexo **62**, é um dímero de complexos de rutênio e é ativado por aquecimento, resultando na dissociação do dímero nas espécies ativas. Posteriormente os grupos dos pesquisadores coreanos Kim e Park[122] desenvolveram o complexo de rutênio **63**, que apresentava uma melhor eficiência do processo de racemização podendo ser utilizado a temperatura ambiente, porém, sua síntese é considerada bastante trabalhosa.

Entretanto, o complexo de rutênio **64**, que também foi desenvolvido pelo grupo de Bäckvall, foi o que causou um significante progresso na RCD quimio-enzimática de álcoois.[123-125] O complexo **64** é descrito por seus criadores como um reagente altamente compatível com as condições empregadas na RCE, além de ter um alto poder de racemização a temperatura ambiente.

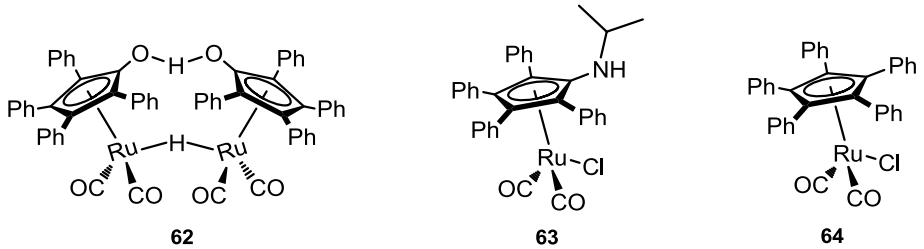


Figura 3.5. Exemplos de complexos de rutênio empregados na racemização de álcoois durante a RCD.

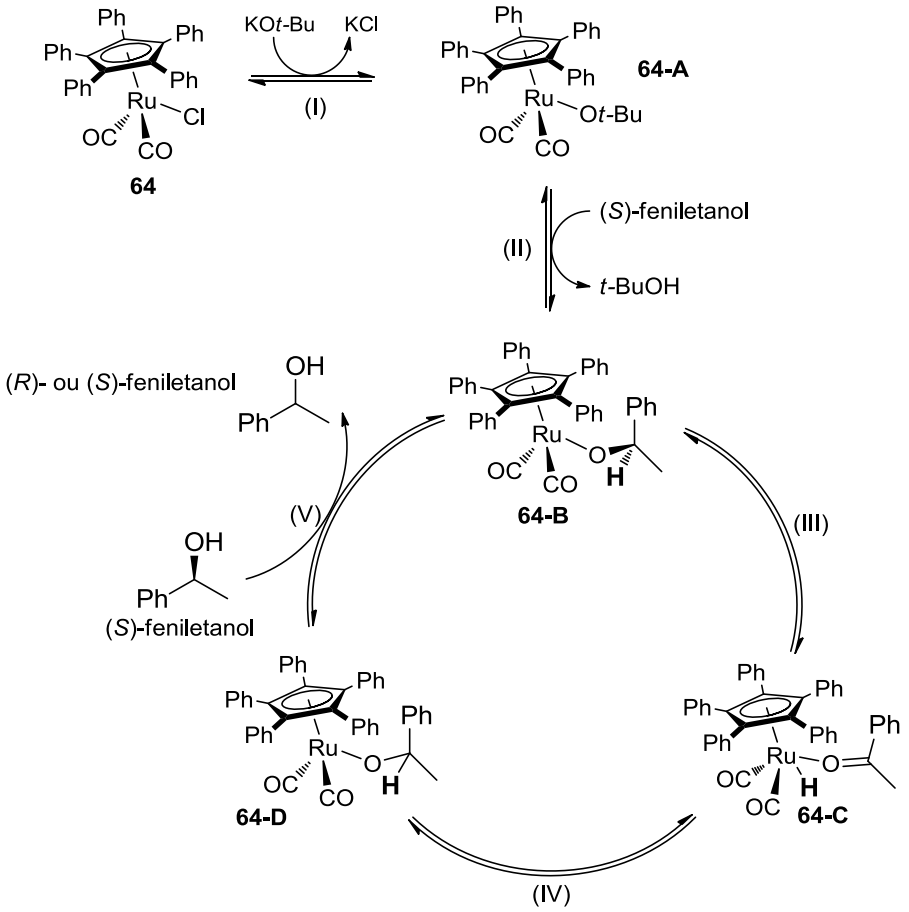
O acetato de isopropenila é utilizado como doador de acila nas reações de RCD quimio-enzimáticas devido a sua compatibilidade com o catalisador de rutênio. O uso de acetato de vinila, comumente utilizado como doador de acila nas RCE resulta na formação de acetaldeído, o qual interfere no processo de transferência de hidrogênio pelo catalisador.

De forma sucinta, o mecanismo de racemização proporcionado pelo complexo de rutênio **64** proposto pelos autores inicia pela ativação do complexo **64** pelo KO*t*-Bu, substituindo o átomo de cloro pelo grupo *terc*-butoxila, levando então a formação do complexo **64-A**, o qual é a forma ativa. (Esquema 3.5, passo I). Este novo complexo

formado é caracterizado pela mudança de coloração da mistura reacional, de amarelo para castanho escuro.

Quando uma molécula do álcool secundário quiral, representado no Esquema 3.5 pelo (*S*)-feniletanol é adicionada, ocorre uma rápida troca entre o grupo *terc*-butoxila presente no complexo **64-A** e o álcool enantiomericamente puro (passo II), levando a formação do intermediário **64-B**. Uma vez formado o intermediário **64-B** ocorre uma etapa de eliminação de hidreto, levando a formação do complexo **64-C** (passo III). Dados experimentais mostram que a cetona formada permanece coordenada ao átomo de Ru.

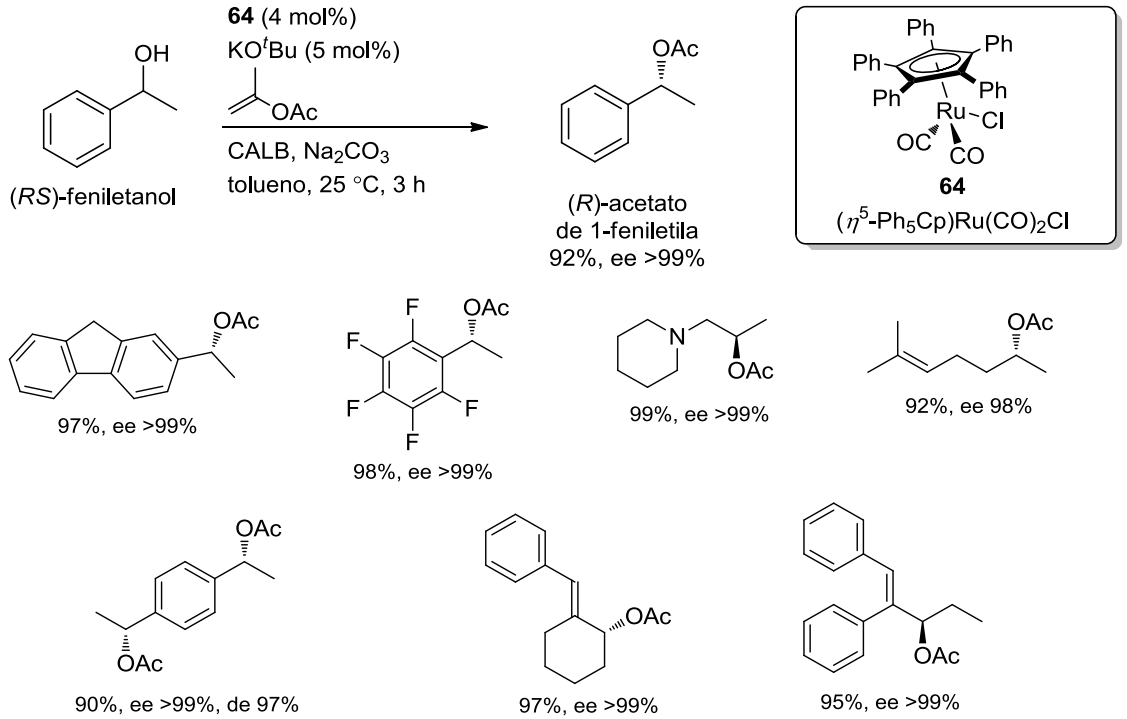
Como ligação sigma entre o oxigênio carbonílico e o átomo de Ru possui rotação livre, a reinserção do hidreto pode ocorrer em qualquer uma das faces da cetona. Uma nova troca entre o complexo **64-D** e uma segunda molécula de (*S*)- ou (*R*)-feniletanol libera o álcool com configuração (*R*) ou (*S*) regenerando o intermediário **64-B**.



Esquema 3.5. Mecanismo proposto para a racemização de álcoois secundários mediada pelo complexo de rutênio **64**.

Com o emprego do complexo **64** diferentes álcoois foram resolvidos dinamicamente, levando ao produto acetilado com excelentes valores de conversão e excessos enantioméricos, sendo até mesmo possível utilizar esta metodologia para preparação de álcoois enantiomericamente puros em escala de quilogramas.[126]

No Esquema 3.6 é mostrado a RCD para o (*RS*)-feniletanol e alguns exemplos de produtos acetilados obtidos por essa metodologia.



Esquema 3.6. RCD quimio-enzimática do (*RS*)-feniletanol e outros exemplos de produtos acetilados obtidos por RCD.

3.2. Apresentação e discussão dos resultados

3.2.1. Síntese dos álcoois secundários contendo boro

Até o momento, álcoois secundários quirais contendo boro, seja na forma de ácido ou éster borônico, não são disponibilizados comercialmente. Desta forma, o primeiro passo deste projeto foi a preparação de diferentes álcoois quirais contendo boro para serem empregados como substratos. Os álcoois contendo boro **65a-h** mostrados na Figura 3.6 foram preparados através de diferentes metodologias, as quais serão descritas a seguir.

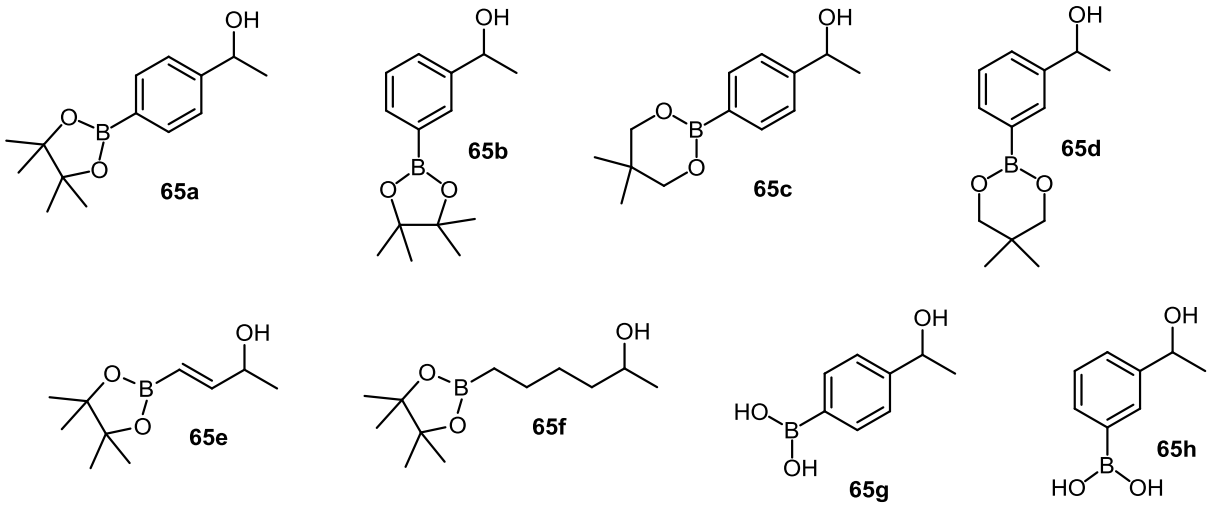
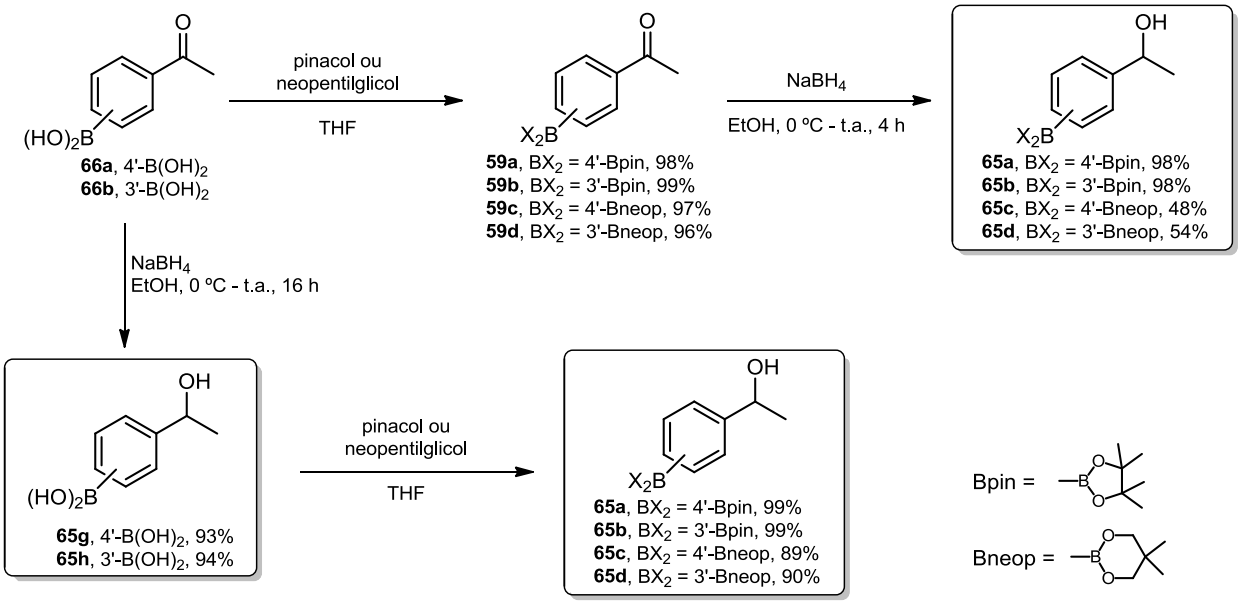


Figura 3.6. Álcoois secundários quirais contendo boro que foram avaliados como substratos em reações de acetilação enantiosseletiva mediada por lipases.

Os álcoois **65a-d**, os quais possuem o grupamento éster borônico ligado nas posições 4 (*para*) e 3 (*meta*) do anel aromático, e os álcoois **65g,h** contendo o grupamento ácido borônico foram preparados a partir dos ácidos 4- e 3-acetil-fenilborônicos (**66a,b**), os quais foram obtidos comercialmente. Os álcoois desejados foram preparados através de metodologias simples como mostrado no Esquema 3.7.



Esquema 3.7. Síntese dos álcoois (*RS*)-**65a-d** e (*RS*)-**65g,h**.

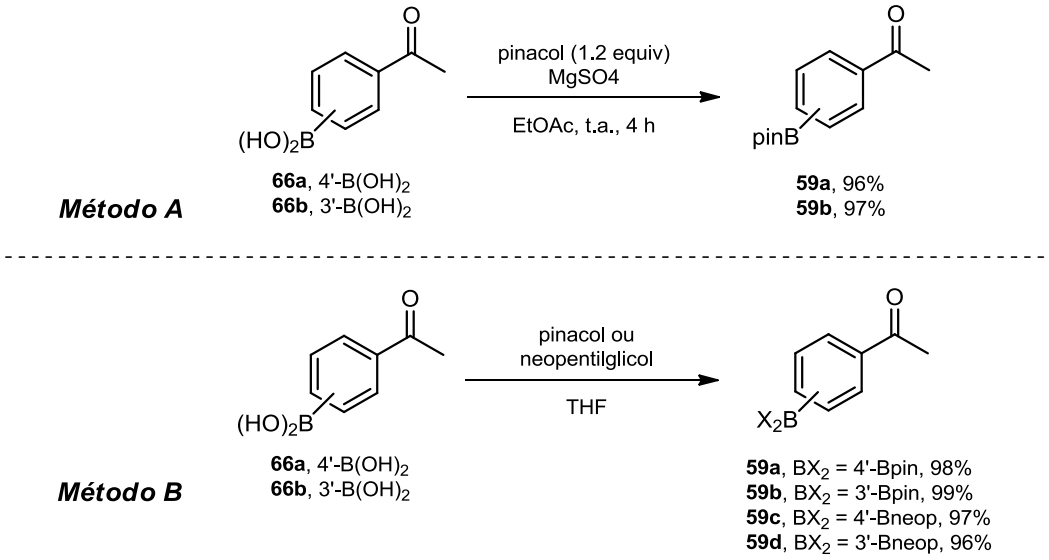
Inicialmente, os ácidos borônicos **66a,b** foram submetidos a uma reação de esterificação do grupamento ácido borônico com os dióis pinacol ou 2,2-dimetilpropano-1,3-diol também conhecido como neopentilglicol. A escolha destes dióis está relacionada à estabilidade dos ésteres borônicos formados ao ar e a umidade. Estes ésteres borônicos também são estáveis em contato com a sílica e assim, podem ser facilmente purificados por cromatografia em coluna. O neopentilglicol pode também ser uma alternativa ao uso do pinacol, principalmente devido ao seu menor custo.

A conversão dos ácidos borônicos em seus respectivos ésteres ocorre de maneira quantitativa através da remoção da água formada durante a reação. Para isso, os ésteres acetil-fenilborônicos **59a-d** foram preparados através de duas metodologias, ambas levando aos compostos desejados com altos rendimentos (Esquema 3.8).

Na primeira metodologia (Método A, Esquema 3.8), os ácidos borônicos **66a,b** e um pequeno excesso de pinacol foram dissolvidos em acetato de etila, seguido da adição de 3 equivalentes de $MgSO_4$. A conversão dos reagentes nos produtos foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD) e após 4 horas de reação os produtos desejados **59a** e **59b** foram obtidos com 96 e 97 % de rendimento, respectivamente.

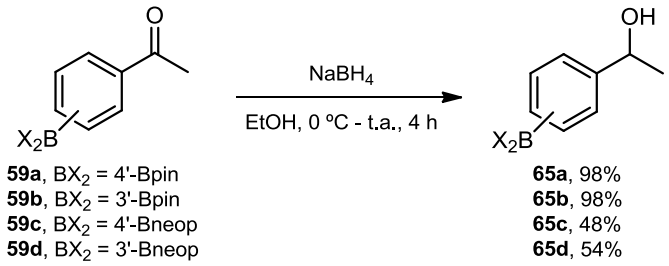
Entretanto, foi estabelecida uma condição mais rápida e eficiente para a esterificação dos ácidos borônicos **66a,b** (Método B, Esquema 3.8). A reação de esterificação foi acelerada pela remoção da água formada juntamente com a remoção do solvente, e utilizando apenas um equivalente de pinacol ou neopentilglicol com relação ao ácido borônico. Os reagentes foram dissolvidos em THF anidro, seguido da evaporação do solvente em rota-evaporador. O processo de adição de solvente e evaporação foi repetido

três vezes levando a formação dos respectivos ésteres borônicos **59a-d** com excelentes rendimentos (96 a 99%).



Esquema 3.8. Reações de esterificação dos ácidos acetil-fenilborônicos **66a,b** com pinacol.

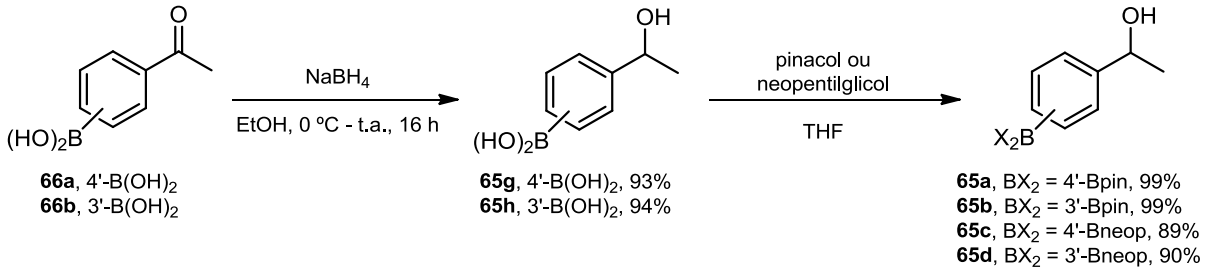
Para a redução da função cetona dos compostos **59a,d** aos respectivos álcoois secundários (*RS*)-**65a,d** foi empregado a metodologia usual de redução de cetonas, o qual emprega o $NaBH_4$ como agente redutor. O grupamento éster borônico derivado do pinacol mostrou-se inerte as condições reacionais, e posteriormente as condições de purificação, uma vez que os produtos finais (*RS*)-**65a,b** foram obtidos com excelentes rendimentos (Esquema 3.9). Porém, o grupamento éster borônico derivado do neopentilglicol não se mostrou tão estável as condições reacionais, e os produtos desejados (*RS*)-**65c**,**d** foram obtidos com 48 e 54% de rendimento após o processo de purificação como mostrado no Esquema 3.9.



Esquema 3.9. Redução da função cetona dos substratos **59a,b** aos respectivos álcoois (*RS*)-**65a,d**.

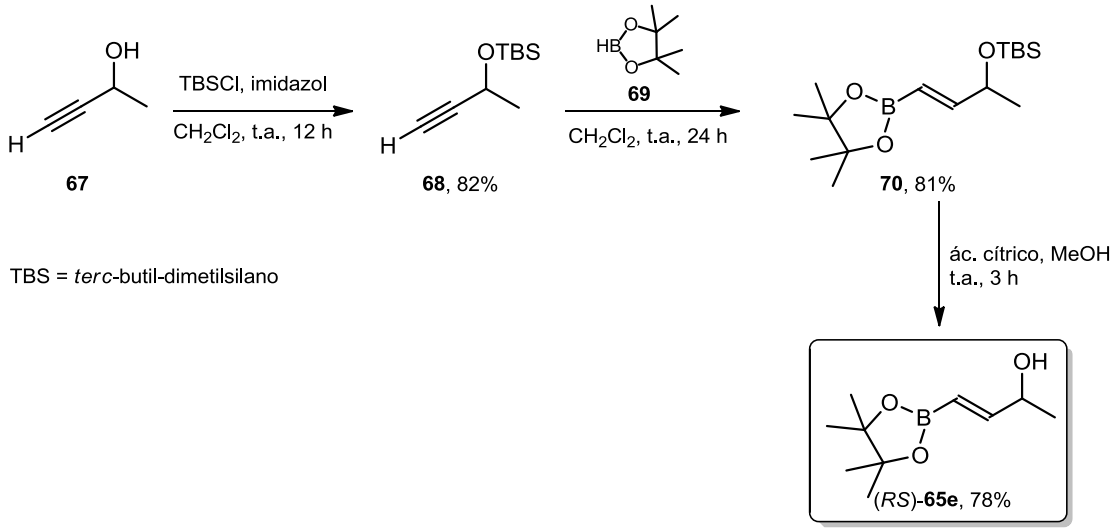
Alternativamente, os álcoois (*RS*)-**65c,d** puderam ser obtidos com melhores rendimentos através de outra rota sintética (Esquema 3.10). Nesse caso, os ácidos 4- e 3-acetilborônicos (**66a**,**b**) tiveram sua função cetona reduzida aos respectivos álcoois

utilizando $NaBH_4$ como agente redutor levando a formação dos álcoois contendo o grupamento ácido borônico (*RS*)-**65g,h**. Os produtos obtidos foram submetidos a reação de esterificação com neopentilglicol em THF (Método B), levando aos álcoois desejados (*RS*)-**65c**,**d** com 89 e 90 % de rendimento, respectivamente. Utilizando esta mesma abordagem sintética, os álcoois contendo os ésteres borônicos do pinacol foram obtidos com rendimentos quantitativos.



Esquema 3.10. Preparação dos álcoois (*RS*)-**65g,h** e a reação de esterificação para a obtenção dos álcoois (*RS*)-**65c,d**.

A síntese de éster pinacólico do ácido (*E*)-3-hidroxi-1-butenilborônico [(*RS*)-**65e**] foi realizada em três etapas reacionais conforme mostrada no Esquema 3.11.

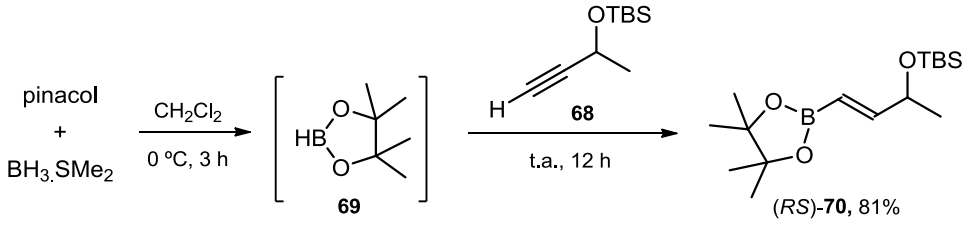


Esquema 3.11. Etapas sintéticas para a obtenção do álcool (*E*)-3-hidroxi-1-butenilborônico [(*RS*)-**65e**].

Inicialmente o álcool but-3-in-2-ol (**67**), teve sua função hidroxila protegida na forma de éter de silício através da reação com o cloreto de *terc*-butildimetilsilano (TBSCl), levando ao composto **68** com 82% de rendimento. Na etapa seguinte, através de uma reação de hidroboração do alcino **68** foi obtido o éster vinilborônico **70** com 81% de rendimento. Para esta transformação foi utilizada a pinacolborana (**69**) como reagente de hidroboração.

Para esta reação a pinacolborana foi gerada *in situ* pela reação entre o pinacol e o complexo $BH_3.SMe_2$ em diclorometano (Esquema 3.12).[127] Na literatura são encontrados

alguns métodos em que a reação de hidroboração é realizada apenas utilizando-se a pinacolborana pura e o composto alquenílico.[128-129] Com o objetivo de evitar o isolamento da pinacolborana, decidiu-se adicionar o alcino **68** no meio reacional aonde foi previamente gerada a pinacolborana. Após 12 horas de reação, a pinacolborana (**69**) que não reagiu foi hidrolisada, e o produto **70** foi obtido com 81% de rendimento após a purificação por coluna cromatográfica.



TBS = *terc*-butil-dimetilsilano

Esquema 3.12. Etapa de hidroboração do alcino **68** com a pinacolborana **69**, o qual é gerada a partir do pinacol e $BH_3.SMe_2$.

A estereosseletividade da reação de hidroboração de alcinos terminais é bem conhecida, o qual leva majoritariamente ao isômero-(*E*). Esta estereosseletividade foi observada na formação do composto **70**, pela análise das constantes de acoplamento dos hidrogênios vinílicos obtido por espectroscopia de RMN de ^{1}H (Figura 3.7).

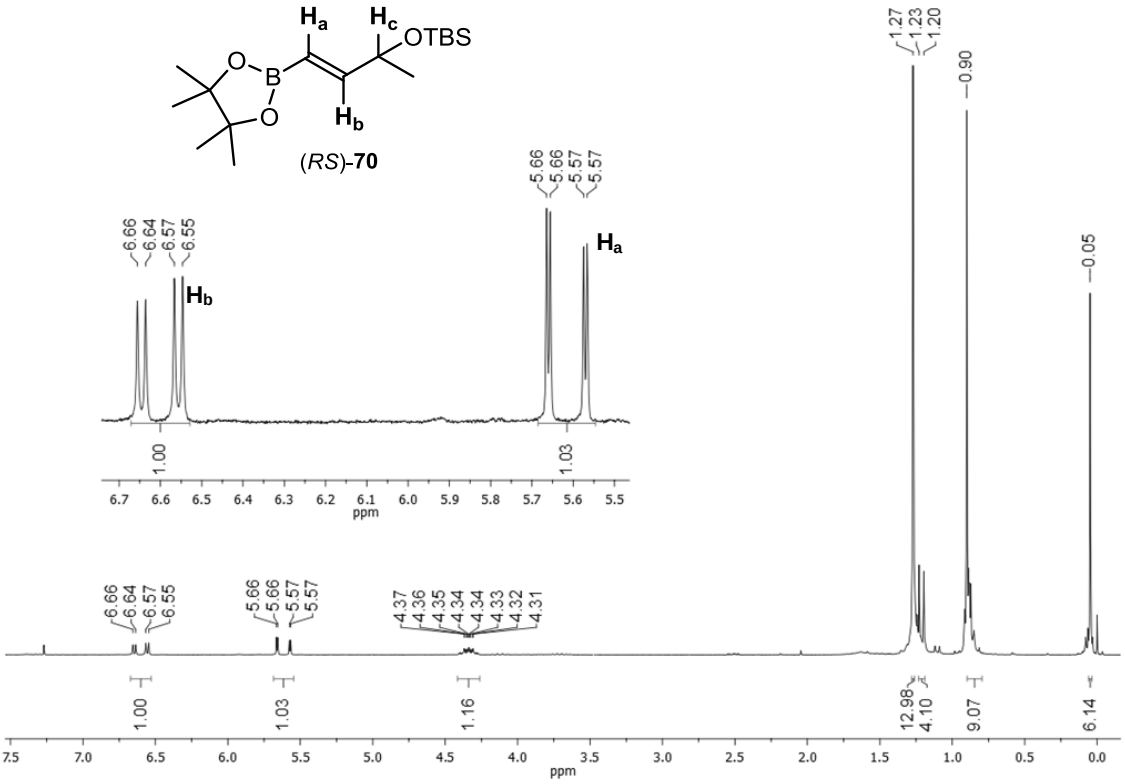


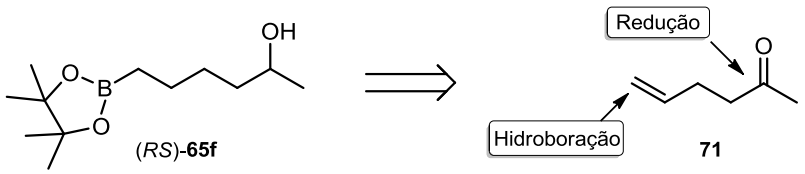
Figura 3.7. Estereosseletividade da reação de hidroboração observada por RMN de ^{1}H (200MHz, $CDCl_3$) na formação do produto **70**.

No espectro mostrado na Figura 3.7 pode-se observar na região compreendida entre 5 e 7 ppm a presença dos hidrogênios vinílicos. Entre 5,57 e 5,66 ppm pode-se observar o sinal referente ao $\mathbf{H_a}$, que apresenta-se como um dubleto de dubletos. Este sinal possui uma constante de acoplamento (*J*) de 18 Hz referente ao acoplamento entre o $\mathbf{H_a}$ e o $\mathbf{H_b}$, e uma constante de acoplamento menor (^2J) de 1,8 Hz, do acoplamento a longa distância entre o $\mathbf{H_a}$ e o hidrogênio do centro assimétrico $\mathbf{H_c}$. Entre 6,55 e 6,66 ppm encontra-se o sinal do $\mathbf{H_b}$ que também se apresenta como um dubleto de dubletos com constantes de acoplamento J = 18 Hz e ^2J = 3,8 Hz. Adicionalmente, pode-se observar os sinais referentes aos demais hidrogênios presentes no composto **70.** Em 0,05 ppm, encontra-se um singleto referente aos seis hidrogênios das duas metilas ligadas ao átomo de silício. Em 0,90 ppm, um singleto referente aos nove hidrogênios do grupo *terc*-butila. Em 1,21 ppm, um sinal na forma de dubleto (J = 6,6 Hz) referente aos três hidrogênios da metila ligada ao centro assimétrico. E finalmente, o sinal referente ao hidrogênio $\mathbf{H_c}$ ligado ao centro assimétrico que se apresenta na forma de multipletos devido aos acoplamentos com os hidrogênios $\mathbf{H_a}$, $\mathbf{H_b}$ e os hidrogênios do grupo metila.

Uma discussão mais detalhada sobre a espectroscopia dos compostos de boro sintetizados neste estudo será abordada mais adiante (Item 6).

Por fim, a remoção do grupo *terc*-butil-dimetilsilila do composto **70** foi realizada em meio ácido, utilizando ácido cítrico em MeOH, levando ao composto desejado (*RS*)-**65e** obtido com 78% de rendimento após três horas de reação (Esquema 3.11).

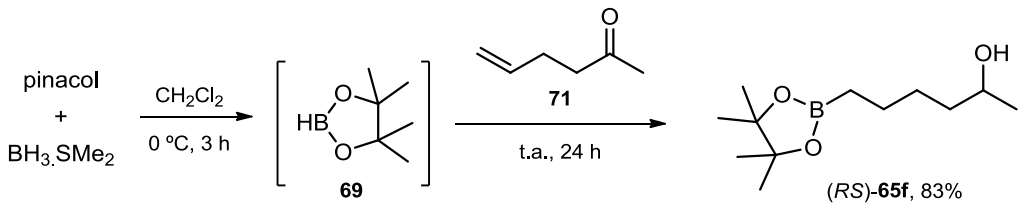
A síntese do éster pinacólico do ácido 2-hidroxi-6-hexilborônico [(*RS*)-**65f**], no qual o grupamento éster borônico encontra-se a 5 átomos de carbono de distância em relação ao grupamento hidroxila também não havia sido descrita na literatura. Desta forma, uma proposta para a sua síntese seria a partir da 5-hexen-2-ona (**71**). Em uma única etapa reacional, o substrato **71** na presença da pinacolborana (**69**), sofreria concomitantemente uma reação de hidroboração na ligação dupla e uma reação de redução da carbonila, levando a formação do produto desejado (*RS*)-**65f** (Esquema 3.13).



Esquema 3.13. Proposta de síntese do éster pinacólico do ácido 2-hidroxi-6-hexilborônico [(*RS*)-**65f**].

Para a obtenção do composto (*RS*)**-65f**, inicialmente foi gerada a pinacolborana (**69**) como descrito anteriormente. Após a formação da pinacolborana, foi adicionado o substrato

71, e após 24 horas de reação a temperatura ambiente foi possível obter o produto desejado (*RS*)-**65f** com 83% de rendimento (Esquema 3.14).



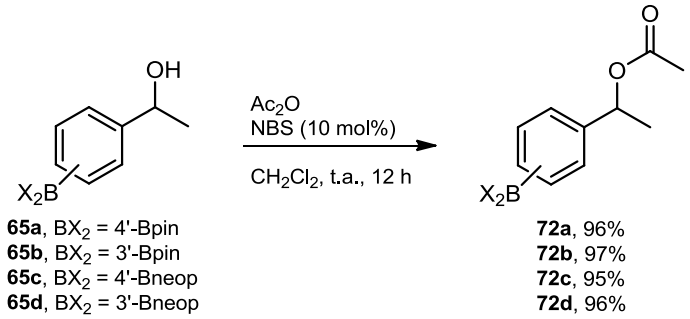
Esquema 3.14. Síntese do éster pinacólico do ácido 2-hidroxi-6-hexilborônico [(*RS*)-**65f**].

3.2.2. Síntese química dos derivados O-acetilados dos álcoois contendo boro

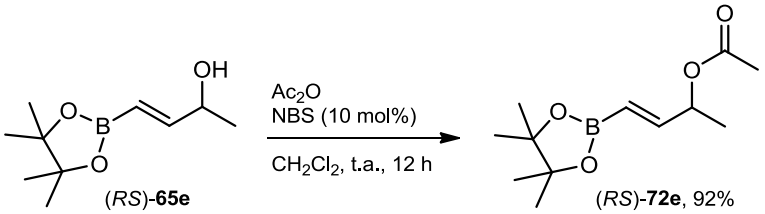
Os derivados *O*-acetilados (*RS*)-**72a-f** dos álcoois contendo boro (*RS*)-**65a-f** foram preparados quimicamente para a obtenção dos dados espectrais, bem como, para o desenvolvimento dos métodos analíticos de cromatografia quiral, e assim determinar os excessos enantioméricos dos produtos das reações de resolução cinética enzimática.

A metodologia comumente utilizada para as reações de acilação de álcoois é aquela em que se reage o álcool com o anidrido de ácido carboxílico desejado na presença de bases como piridina ou uma mistura de trietilamina com uma quantidade subestequiométrica de dimetilaminopiridina (DMAP). Entretanto, inicialmente foi escolhido como metodologia para a acetilação dos álcoois (*RS*)-**65a-f** um procedimento descrito na literatura para a acetilação de álcoois com anidridos no qual emprega *N*-bromosuccinimida (NBS) com catalisador.[130]

Esta metodologia foi avaliada para a reação de acetilação dos álcoois contendo boro (*RS*)-**65a-d** com anidrido acético, e os produtos desejados (*RS*)-**72a-f** foram obtidos com excelentes rendimentos (Esquema 3.15). O mesmo ocorreu na reação de acetilação do álcool (*RS*)-**72e** (Esquema 3.16).

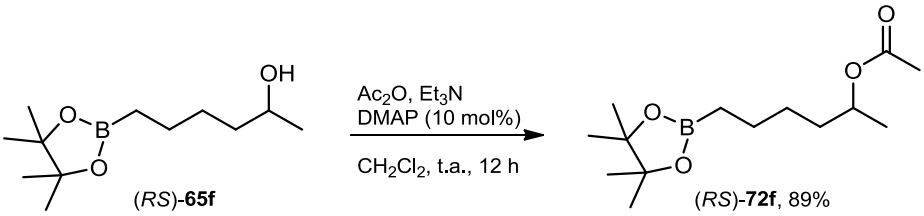


Esquema 3.15. Reação de acetilação dos álcoois (*RS*)-**65a-d** com anidrido acético catalisada por NBS.



Esquema 3.16. Reação de acetilação do álcool (*RS*)-**65e** com anidrido acético catalisado por NBS.

Uma das reações proporcionadas pelo NBS é a oxidação de álcoois aos correspondentes compostos carbonilados.[131] Embora não tenha sido observada a formação de cetonas nas reações em que os álcoois (*RS*)-**65a-e** foram empregados, no caso da acetilação do álcool (*RS*)-**65f**, foi observada a formação da correspondente cetona em quantidades apreciáveis. Assim, um melhor rendimento na obtenção do derivado *O*-acilado (*RS*)-**72f** pode ser alcançado pela metodologia tradicional, na presença das bases Et_3N e DMAP.



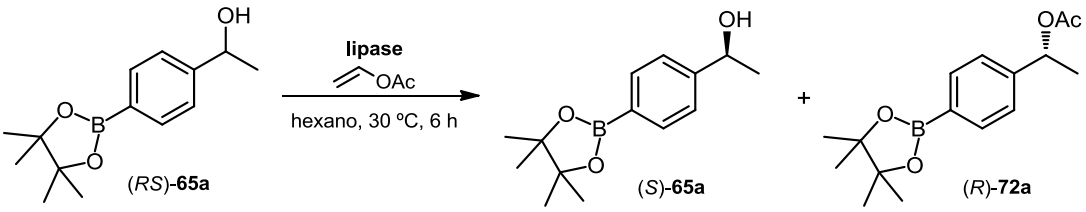
Esquema 3.17. Reação de acetilação do álcool (*RS*)-**65f** com anidrido acético na presença das bases Et_3N e DMAP.

*3.2.3. Resolução cinética enzimática dos álcoois contendo boro **65a-h***

Com o objetivo de investigar o comportamento dos álcoois **65a-h** previamente preparados frente à reação de esterificação enantiosseletiva mediada por lipases, foi avaliado inicialmente a atividade de doze diferentes lipases, utilizando como substrato modelo o álcool (*RS*)-**65a**. As lipases empregadas neste estudo foram escolhidas pela atividade e seletividade apresentada na RCE de diferentes álcoois em trabalhos descritos na literatura.

Neste estudo inicial, as reações foram realizadas em hexano em uma temperatura de 30ºC por 6 horas, utilizando acetato de vinila como doador de grupo acila. Os resultados obtidos são mostrados na tabela Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Avaliação de lipases para a resolução cinética do álcool (RS)-**65a**.[a]



#	fonte da lipase (nome comercial)	ee (%)		*c* (%)[d]	*E*[e]
		(*S*)-**65a**[b]	(*R*)-**72a**[c]		
1	*Aspergillus niger* (Amano A)	3	>99	3	>200
2	*Candida antarctica* (CALB, Novozym 435)	>99	>99	50	>200
3	*Candida cilindracea* (Fluka)	0	—	0	—
4	*Candida rugosa* (Amano, Tipo VII)	0	—	0	—
5	*Mucor javanicus* (Amano M)	2	>99	2	>200
6	*Penicillium camemberti* (Amano G)	3	>99	3	>200
7	pâncreas suíno (Sigma, Tipo II)	0	—	0	—
8	*Pseudomonas cepacia* (Amano PS)	11	>99	10	>200
9	*Pseudomonas cepacia* (Amano PS-CII)	>99	>99	50	>200
10	*Pseudomonas cepacia* (Amano PS-DI)	>99	>99	50	>200
11	*Pseudomonas fluorescens* (Amano AK)	40	>99	29	>200
12	*Pseudomonas sp.*	6	>99	6	>200

[a] Condição reacional: substrato (*RS*)-**65a** (0,2 mmol), lipase (40 mg), acetato de vinila (0,6 mmol), hexano (10 mL), 30 °C, 6 h, 150 rpm;
[b] Determinado por CLAE com fase estacionária quiral;
[c] Determinado por CG com fase estacionária quiral;
[d] Conversão: $c = ee_S/(ee_S + ee_P)$;
[e] Enantiosseletividade: $E = \ln[ee_P(1-ee_S)]/(ee_P+ee_S) / \ln[ee_P(1+ee_S)]/(ee_P+ee_S)$;
(–): não determinado devido à baixa conversão.

A partir desta primeira avaliação, observou-se que as lipases de *A. niger*, *C. cilindracea*, *C. rugosa*, *P. camemberti*, pâncreas suíno, *P. cepacia* e *Pseudomonas sp*. apresentaram baixa (*c* ≥6%) ou nenhuma (*c* = 0) atividade sobre o substrato (*RS*)-**65a** (Tabela 3.1, linhas 1, 3-7 e 10). Entretanto, as lipases de *C. antarctica* (CALB, Novozym 435) e de *P. cepacia* [imobilizadas em cerâmica (Amano PS-CII) ou diatomita (Amano PS-

DI)] levaram ao éster desejado (*R*)-**72a** com a perfeita conversão (*c* = 50%), como consequência, tanto o éster formado (*R*)-**2a** quanto o substrato remanescente (*S*)-**65a** apresentaram excelentes excessos enantiômericos (ee >99%, Tabela 3.1, linhas 2,9 e 10).

A lipase de *P. cepacia* na forma não imobilizada (Amano PS) e a lipase de *P. fluorescens* (Amano AK) levaram a formação do produto acetilado (*R*)-**72a** com 10 e 40% de conversão respectivamente, porém, mantendo a alta enantiosseletividade (*E* >200) na formação do produto acetilado (*R*)-**72a** (Tabela 3.1, linhas 8 e 11).

Nos cromatogramas a seguir (Figura 3.8), pode-se observar a seletividade das reações. O cromatograma **A** representa o melhor perfil cromatográfico encontrado para a separação do racemato (*RS*)-**65a** por CLAE utilizando fase estacionária quiral. Já o cromatograma **B** (Figura 3.8), mostra a excelente enantiosseletividade (ee >99%) da reação RCE do álcool (*RS*)-**65a**, em que após a reação de RCE mediada pela CALB (Tabela 3.1, linha 2) apenas o enantiômero-(*S*) foi observado.

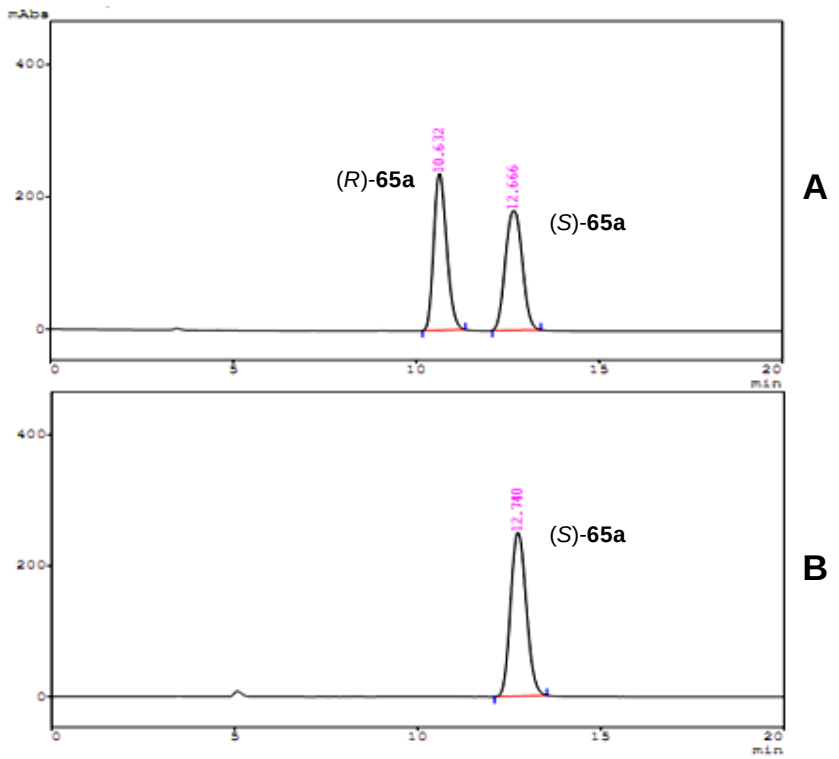


Figura 3.8. Cromatogramas obtidos do composto (*RS*)-**65a** (cromatograma **A**) e do álcool que não reagiu (*S*)-**65a** obtido com ee >99% após a reação de RCE mediada pela CALB (cromatograma **B**). Análises realizadas em CLAE utilizando coluna com fase estacionária quiral (Chiralcel OJ-H).

A medida dos excessos enantioméricos do produto (*R*)-**72a** foi melhor analisada por cromatografia gasosa. O cromatograma **A** (Figura 3.9) representa o melhor perfil cromatográfico para a separação dos enantiômeros do composto (*RS*)-**72a**, enquanto o cromatograma **B** mostra a enantiosseletividade da CALB na obtenção do produto (*R*)-**72a** (ee >99%).

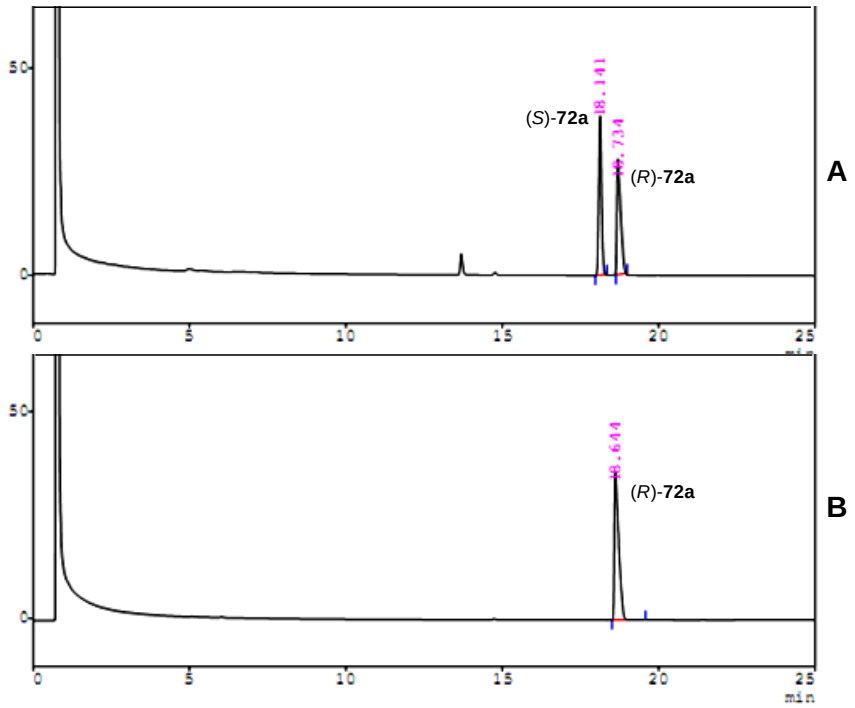


Figura 3.9. Cromatogramas obtidos do composto (*RS*)-**72b** (cromatograma **A**), e do produto (*R*)-**72a** com ee >99%, obtido após a reação de RCE mediada pela CALB (cromatograma **B**). Análises realizadas em CG utilizando coluna com fase estacionária quiral.

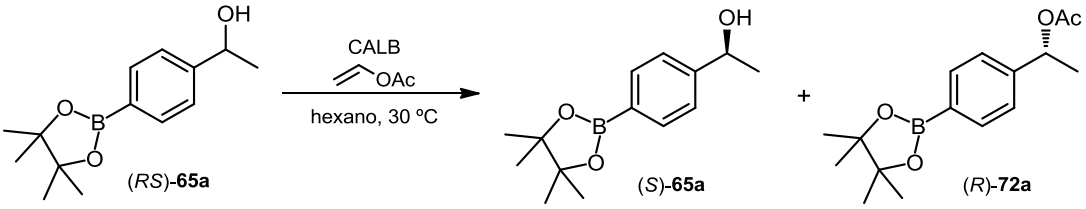
A metodologia empregada para a determinação da configuração absoluta dos compostos enantiopuros obtidos após as reações de RCE será discutida no item 3.2.5 (página 80).

Embora as lipases de *P. cepacia* (Amano PS-DI e Amano PS-DII) tivessem apresentado excelentes resultados, a lipase de *C. antarctica* (CALB, Novozym 435) foi escolhida para ser aplicada nos estudos subsequentes. Esta decisão foi baseada na grande aplicação da CALB como biocatalisador na RCE e RCD de álcoois e aminas. Além disto, outro fator importante para esta escolha é o preço destas enzimas. O valor da CALB é inferior as lipases de *P. cepacia*.

O próximo passo neste estudo foi avaliar o efeito da quantidade de enzima empregada como catalisador, bem como o tempo reacional necessário para alcançar 50% de conversão.

Foram realizadas cinco reações com diferentes quantidades de CALB (Tabela 3.2, linhas 1-5), onde pode-se observar que excelente conversão (*c* = 50%) e a seletividade foram mantidas utilizando-se até 20 mg da lipase imobilizada para 0,2 mmol de substrato (linha 3). Entretanto, mesmo quando foi empregado 5 mg da lipase, o produto da reação foi obtido com uma boa conversão (linhas 4 e 5).

Tabela 3.2. Efeito da quantidade de CALB e do tempo reacional na resolução cinética do álcool contendo boro (RS)-**65a**.[a]



#	CALB (mg)	tempo (h)	ee (%)		*c* (%)[d]	*E*[e]
			(*S*)-**65a**[b]	(*R*)-**72a**[c]		
1	40	6	>99	>99	50	>200
2	30	6	>99	>99	50	>200
3	20	6	>99	>99	50	>200
4	10	6	95	>99	49	>200
5	5	6	75	>99	43	>200
6	20	4	92	>99	48	>200
7	20	2	70	>99	41	>200
8	20	0,5	24	>99	20	>200

[a] Condição reacional: substrato (*RS*)-**65a** (0,2 mmol), CALB, acetato de vinila (0,6 mmol), hexano (10 mL), 30 °C, 150 rpm;
[b] Determinado por CLAE com fase estacionária quiral;
[c] Determinado por CG com fase estacionária quiral;
[d] Conversão: $c = ee_S/(ee_S + ee_P)$;
[e] Enantiosseletividade: $E = \ln[ee_P(1-ee_S)]/(ee_P+ee_S) / \ln[ee_P(1+ee_S)]/(ee_P+ee_S)$;

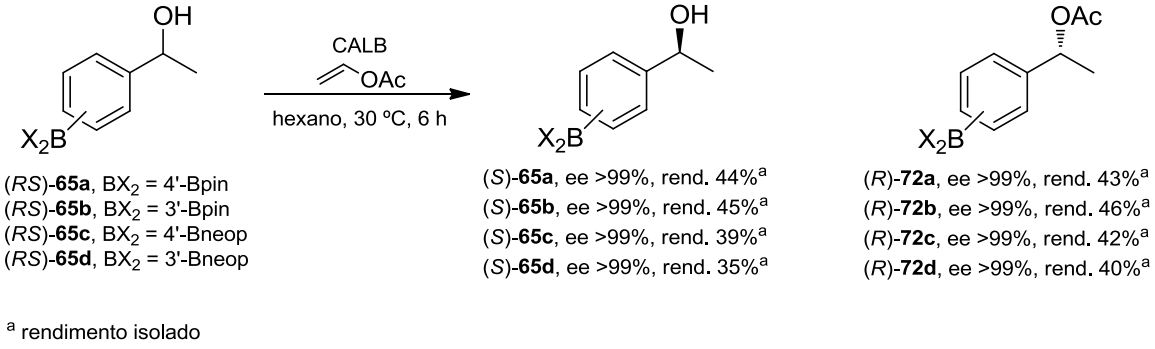
Adicionalmente, foi avaliado a influência do tempo reacional na resolução cinética, mantendo a quantidade ideal de 20 mg da CALB. Como pode-se observar na Tabela 3.2, o melhor tempo para a reação permaneceu 6 horas, havendo um decréscimo na conversão quando empregou-se menores tempos reacionais (linhas 6 a 8).

A partir dos resultados obtidos nestes estudos estabeleceu-se uma condição ótima que foi empregada na resolução cinética dos demais álcoois contendo boro (*RS*)-**65b-f**.

Para o álcool (*RS*)-**65b**, foi possível alcançar uma conversão de 50% com excelentes excessos enantiômericos (ee >99%) após 6 horas de reação. Este resultado mostra que, nas condições reacionais empregadas, a posição do grupamento éster borônico não influência na seletividade ou atividade da lipase durante a RCE (Esquema 3.18).

Para os álcoois (*RS*)-**65c,d** os quais possuem o éster borônico derivado do neopentilglicol também foi possível alcançar a conversão ideal de 50% em 6 horas de reação. Quando foi realizada a RCE dos compostos (*RS*)-**65c,d** em escala preparativa (1,5 mmol), foi observado um menor rendimento tanto para o (*S*)-**65c**,**d** quanto para o (*R*)-**72c**,**d** após a purificação por coluna cromatográfica, quando comparado aos análogos ésteres pinacólicos (*S*)-**65a,b** ou (*R*)-**72a,b**. Este decréscimo no rendimento pode estar relacionado

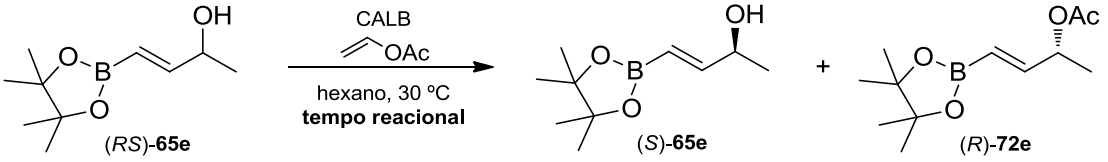
a uma possível hidrólise do éster neopentilborônico ao correspondente ácido quando em contato prolongado com a sílica (Esquema 3.18).



Esquema 3.18. Resolução cinética enzimática dos álcoois (*RS*)-**65a-d** mediada pela CALB.

Quando o álcool alílico (*RS*)-**65e** foi submetido a RCE, 6 horas de reação não foram suficientes para alcançar 50% de conversão. O produto acetilado (*R*)-**72e** foi obtido com 82% de conversão, porém, com excelente enantiosseletividade (ee >99%). Somente foi possível obter 50% de conversão na RCE do composto (*RS*)-**65e** com 12 horas de reação, e ambos o produto acetilado (*R*)-**72e** e o álcool remanescente (*S*)-**72e** apresentaram ee >99% (Tabela 3.3).

Tabela 3.3. Resolução cinética enzimática do álcool (*RS*)-**65e** mediada pela CALB.[a]

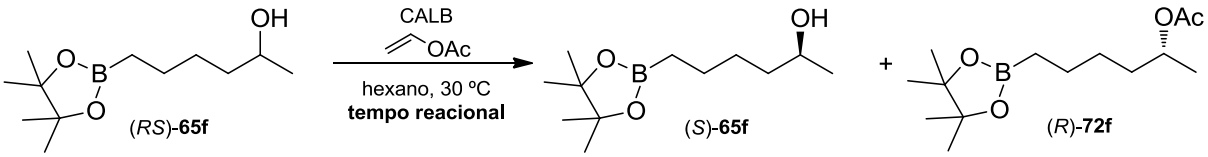


#	tempo (h)	ee (%)		*c* (%)[e]	*E*[f]
		(*S*)-**65e**[c]	(*R*)-**72e**[d]		
5	6	82	>99	45	>200
6	8	92	>99	48	>200
7	10	96	>99	49	>200
8	12	>99 (45)[b]	>99 (43)[b]	50	>200

[a] Condição reacional: substrato (0,2 mmol), CALB (20 mg), acetato de vinila (0,6 mmol), hexano (10 mL), 30 °C, 150 rpm;
[b] Rendimento isolado após purificação por cromatografia em coluna de sílica; condição reacional: substrato (1,5 mmol), CALB (150 mg), acetato de vinila (4,5 mmol), hexano (150 mL), 30 °C, 150 rpm;
[c] Determinado por CLAE com fase estacionária quiral;
[d] Determinado por CG com fase estacionária quiral;
[e] Conversão: $c = ee_S/(ee_S + ee_P)$;
[f] Enantiosseletividade: $E = \ln[ee_P(1-ee_S)]/(ee_P+ee_S) / \ln[ee_P(1+ee_S)]/(ee_P+ee_S)$.

Da mesma forma, a RCE do álcool alifático (*RS*)-**65f** não foi completa com 6 horas de reação (Tabela 3.4), sendo necessárias 14 horas de reação para que o produto acetilado (*R*)-**72f** fosse obtido com 50% de conversão. Assim como para os outros exemplos, o produto acetilado (*R*)-**72f** bem como o álcool que não reagiu (*S*)-**62f** foram obtidos com excelentes excessos enantioméricos (ee >99%).

Tabela 3.4. Resolução cinética enzimática do álcool (*RS*)-**65f** mediada pela lipase de CALB.[a]



#	tempo (h)	ee (%)		*c* (%)[e]	*E*[f]
		(*S*)-**65f**[c]	(*R*)-**72f**[d]		
9	6	77	>99	44	>200
10	8	86	>99	46	>200
11	10	93	>99	48	>200
12	12	97	>99	49	>200
13	14	>99 (45)[b]	>99 (47)[b]	50	>200

[a] Condição reacional: substrato (0,2 mmol), CALB (20 mg), acetato de vinila (0,6 mmol), hexano (10 mL), 30 °C, 150 rpm;
[b] Rendimento isolado após purificação por cromatografia em coluna de sílica; condição reacional: substrato (1,5 mmol), CALB (150 mg), acetato de vinila (4,5 mmol), hexano (150 mL), 30 °C, 150 rpm;
[c] Determinado por CLAE com fase estacionária quiral;
[d] Determinado por CG com fase estacionária quiral;
[e] Conversão: $c = ee_S/(ee_S + ee_P)$;
[f] Enantiosseletividade: $E = \ln[ee_P(1-ee_S)]/(ee_P+ee_S) / \ln[ee_P(1+ee_S)]/(ee_P+ee_S)$.

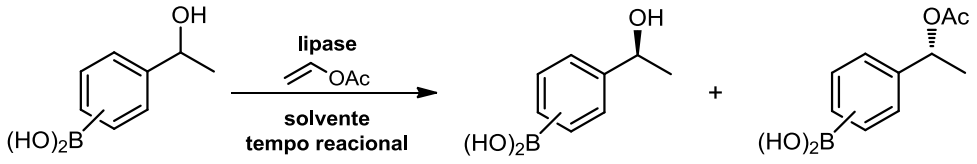
Com o intuito de estudar a influência do grupamento ácido borônico na RCE comparado com o correspondente éster, os ácidos 4- e 3-(1-hidroxietil)-fenilborônicos [(*RS*)-**65g,h**] foram empregados como substratos. Devido a baixa solubilidade dos substratos (*RS*)-**65g,h** em hexano, as reações foram avaliadas em dois sistemas de solvente: éter *terc*-butil-metílico e uma mistura de hexano/ THF na proporção de 8:2.

Inicialmente o ácido borônico (*RS*)-**65g** foi submetido a RCE na presença da lipase CALB durante 6 horas. O sistema de solventes hexano/ THF (8:2) mostrou-se melhor em relação ao éter *terc*-butil-metílico levando a formação do produto acetilado (*R*)-**72g** com 36% de conversão, enquanto que a RCE realizada em éter *terc*-butil-metílico levou a formação do produto acetilado (*R*)-**72g** com apenas 24% de conversão. No entanto, em ambos os casos os produtos foram obtidos com excelente enantiosseletividade (ee >99%)

A partir destes resultados, foram empregadas as lipases de *P. cepacia* em suas formas imobilizadas (Amano PS-CII e Amano PS-DI) os quais também apresentaram alta seletividade frente ao substrato (*RS*)-**65a** utilizando o sistema de solventes hexano/THF. Surpreendentemente, as lipases de *P. cepacia* não promoveram a acetilação do grupamento álcool do ácido borônico (*RS*)-**65g**.

Quando foi avaliada a influência do tempo reacional na RCE do substrato (*RS*)-**65g**, observou-se que em tempos reacionais mais longos foi possível obter melhores valores de conversão. Como pode-se observar na Tabela 3.5, foi possível obter 48% de conversão após 48 horas de reação, mantendo a enantiosseletividade. Porém, quando empregou-se o isômero contendo o grupamento ácido borônico na posição *meta*, foi observado que o substrato (*RS*)-**65h** foi acetilado enzimaticamente somente com 3% de conversão após 24 horas de reação (linha 5). Após 48 horas de reação houve um pequeno acréscimo no valor da conversão, de 3 para 5% (linha 6).

Tabela 3.5. Resolução cinética enzimática dos ácido 4-(1-hidroxietil) fenilborônicos, (*RS*)-**65g,h**.[a]



(*RS*)-**65g**, 4'-B(OH)$_2$ (*RS*)-**65h**, 3'-B(OH)$_2$ | (*S*)-**65g**, 4'-B(OH)$_2$ (*S*)-**65h**, 3'-B(OH)$_2$ | (*R*)-**72g**, 4'-B(OH)$_2$ (*R*)-**72h**, 3'-B(OH)$_2$

#	substrato	lipase	solvente	tempo (h)	ee (%)		*c* (%)[d]	*E*[e]
					(*S*)-**65**[b]	(*R*)-**72**[c]		
1	(*RS*)-**65g**	CALB	hexano/ THF	6	56	>99	36	>200
2		CALB	*t*-BuOMe	6	32	>99	24	>200
3		*P. Cepacia* (Amano PS-CII)	hexano/ THF	6	0	—	0	—
4		*P. Cepacia* (Amano PS-DI)	hexano/ THF	6	0	—	0	—
5		CALB	hexano/ THF	12	58	>99	37	>200
6		CALB	hexano/ THF	24	71	>99	42	>200
7		CALB	hexano/ THF	48	91	>99	48	>200
8	(*RS*)-**65h**	CALB	hexano/ THF	24	3	>99	3	>200
9		CALB	hexano/ THF	48	5	>99	5	>200

[a] Condição reacional: substrato (0,2 mmol), CALB (40 mg), acetato de vinila (0,6 mmol), solvente (10 mL), 30 °C, 150 rpm;
[b] Determinado por CLAE com fase estacionária quiral após esterificação do grupamento ácido borônico com pinacol;
[c] Determinado por CG com fase estacionária quiral após esterificação do grupamento ácido borônico com pinacol;
[d] Conversão: $c = ee_S/(ee_S + ee_P)$;
[e] Enantiosseletividade: $E = \ln[ee_P(1-ee_S)]/(ee_P+ee_S) / \ln[ee_P(1+ee_S)]/(ee_P+ee_S)$.
(–): não determinado devido à baixa ou nenhuma conversão.

Em comparação com os resultados obtidos com a RCE do composto (RS)-**65a** em que foi possível alcançar 50% de conversão em apenas 6 horas de reação, pode-se postular que a baixa conversão observada para os álcoois contendo o grupamento ácido borônico pode estar relacionada a uma possível inibição da lipase por estes compostos. Esta hipótese é suportada por trabalhos descritos na literatura, que mostram que os ácidos borônicos podem se ligar no sítio ativo com mais eficiência que os análogos ésteres borônicos.

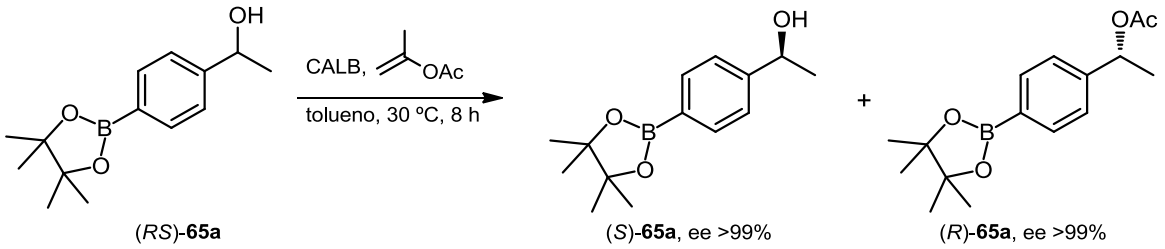
Outra hipótese para a baixa conversão poderia ser interação do grupamento ácido borônico com outras partes da enzima, diminuindo assim a quantidade de substrato disponível para a reação enzimática. Porém, para validar essas hipóteses poderiam ser realizados alguns experimentos como a cristalografia de Raios-X, em que seria necessário cristalizar a lipase em uma solução contendo o substrato. Infelizmente, devido à complexidade desta técnica, não foi possível durante o período dedicado a esta tese, realizar este tipo de experimento.

3.2.4. Resolução cinética dinâmica quimio-enzimática dos álcoois contendo boro

O próximo passo após o estudo da RCE dos álcoois **65a-h** seria o estudo da resolução cinética dinâmica destes compostos. Como mencionado na breve introdução sobre a resolução cinética dinâmica de álcoois (item 3.1.2, página 52), o uso de acetato de isopropenila como reagente doador de acila é preferível ao uso de acetato de vinila por ser compatível com o catalisador de racemização. Além disso, o uso de tolueno como solvente da reação deve-se a melhor solubilidade do catalisador neste solvente.

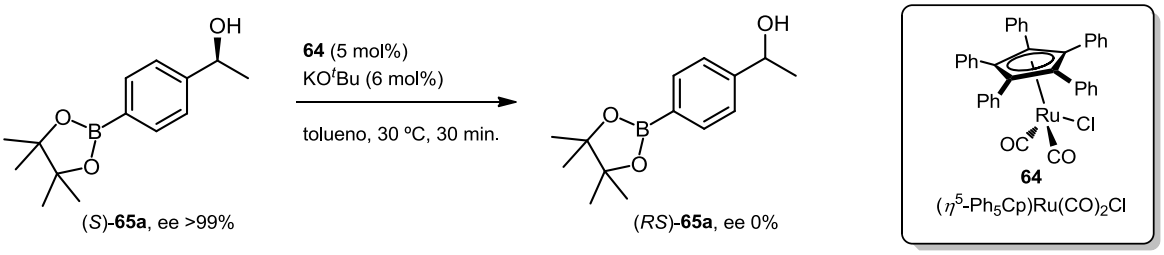
Desta forma, o primeiro experimento realizado foi o estudo das condições ideais para a RCE do álcool (*RS*)-**65a**, mediada pela lipase CALB utilizando acetato de isopropenila como doador de acila e tolueno como solvente.

Inicialmente, submeteu-se o álcool (*RS*)-**65a** a RCE nas mesmas condições reacionais, porém, utilizando tolueno como solvente (30 ºC e 6 horas de reação). Nestas condições, o produto acetilado foi obtido com ee >99%, no entanto, o álcool remanescente foi obtido com *ee* de 95%. Com o objetivo de alcançar a máxima conversão aumentou-se o tempo reacional para 8 horas, e assim foi possível obter 50% de conversão, e tanto o álcool remanescente quanto o produto acetilado foram obtidos com *ee* >99% (Esquema 3.19).



Esquema 3.19. Resolução cinética do álcool (*RS*)-**65a** utilizando acetato de isopropenila como doador de acila e tolueno como solvente.

O próximo passo foi avaliar a atividade do complexo de rutênio (**61**), adquirido comercialmente, na racemização do composto (*RS*)-**65a**. O álcool enantiomericamente enriquecido (*S*)-**65a** foi mantido sob agitação em tolueno na presença do complexo de rutênio **64** (5 mol%) por um período de 30 minutos. Após este tempo, uma análise por CLAE quiral mostrou que o álcool foi completamente racemizado. (Esquema 3.20).



Esquema 3.20. Racemização do álcool (*S*)-**65a** pelo complexo de rutênio **64**.

Uma vez que foi possível observar o eficiente processo de racemização do álcool (*S*)-**65a**, partiu-se para realização da reação de RCD quimio-enzimática do composto (*RS*)-**65a**. Entretanto, após a adição de todos os componentes da reação, foi observado que alguns minutos após a adição do acetato de isopropenila, a coloração da reação que inicialmente é castanha escura, tornou-se verde escura. Após 8 horas de reação, foi retirada uma alíquota e esta analisada por cromatografia quiral. Através das análises, observou-se que tanto o produto acetilado (*R*)-**72a**, quanto o álcool que não havia reagido apresentavam excesso enantiomérico >99%, mostrando que ocorreu uma reação de resolução cinética, não ocorrendo a racemização do álcool **65a** pelo complexo de rutênio **64** durante a reação.

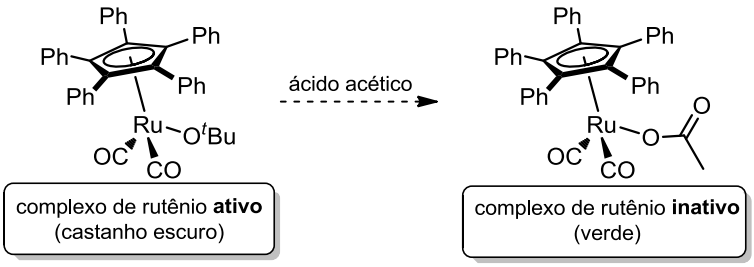
Um dos possíveis interferentes da reação é o ácido acético, que mesmo em condições reacionais anidras, a água residual presente na enzima pode realizar a hidrólise do complexo acil-enzima ou do doador de acila, liberando ácido acético no meio reacional. Em um trabalho reportado pelo grupo do Bäckvall, é citado que o complexo de rutênio ativo **64-A,** que possui uma coloração castanha escura torna-se verde devido à sua

decomposição.[132] Entretanto não é mencionado que esta decomposição e resultado da presença do ácido acético no meio reacional.

Assim, para comprovar que o ácido acético presente no meio reacional poderia reagir com o complexo **64** foi realizado o seguinte experimento: o complexo **64** (5 mol%) foi solubilizado em tolueno e em seguida foi adicionado o KO^{t}Bu (6 mol%). A coloração da mistura reacional tornou-se castanha escura, conforme é descrito na literatura. Após 6 minutos foi adicionado o (*S*)-feniletanol e a mistura permaneceu sob agitação por 2 horas, e durante este período a coloração do meio reacional permaneceu castanha escura. Após este período, foi adicionada uma pequena quantidade de ácido acético (0,5 μL, 5 mol%), e instantaneamente a coloração do meio reacional tornou-se verde. Desta forma pode-se inferir que a coloração verde é proveniente do ácido acético gerado na reação.

Finalmente, para investigar se o acetato de isopropenila utilizado, embora tratado e posteriormente destilado, possui traços de ácido acético, ou poderia se decompor durante a reação foi realizado o mesmo procedimento relatado acima (todos os reagentes, com exceção da enzima), porém, após 4 minutos da adição do (*S*)-feniletanol foi adicionado o acetato de isopropenila. Após 3 horas de reação a mistura reacional ainda apresentava uma coloração castanha escura.

Com estes dados pode-se propor que uma pequena quantidade de água presente na enzima é responsável pela hidrólise do acetato de isopropenila ou do intermediário acetil-enzima, levando a formação do ácido acético o qual inativa o complexo de rutênio (Esquema 3.21).

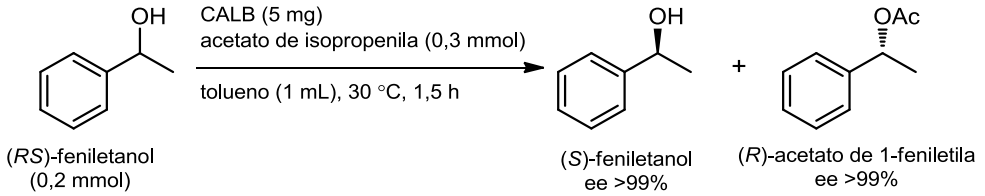


Esquema 3.21. Inativação do complexo de rutênio ativo **61-A** pelo ácido acético gerado no meio reacional.

Nestes primeiros estudos não havia sido realizado um tratamento prévio para o controle da atividade de água da CALB. Assim, para controlar a atividade de água na enzima foram realizados alguns procedimentos descritos na literatura, os quais não afetariam a atividade enzimática.

Para isso, a CALB foi mantida em frascos selados, contendo diferentes agentes desidratantes como pentóxido de fósforo, sílica gel e uma solução saturada de LiCl. Após 24 horas, foi avaliado se a CALB não perdera a sua atividade através da RCD do (*RS*)-feniletanol.

A reação utilizada para o controle da atividade enzimática da CALB foi a reação de esterificação do (*RS*)-feniletanol, utilizando as condições reacionais mostradas no Esquema 3.22. Nestas condições, a CALB não tratada leva a formação do produto acetilado com 50% de conversão após 90 minutos, e tanto o produto acetilado, quando o feniletanol que não reagiu são obtidos com ee >99%. Os mesmos resultados foram observados para as enzimas submetidas ao tratamento de secagem.

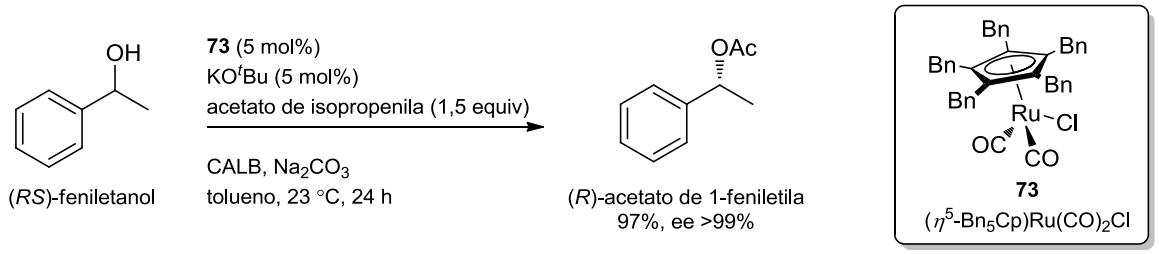


Esquema 3.22. Controle da atividade enzimática da CALB pela reação de acetilação enantiosseletiva do (*RS*)-feniletanol.

Infelizmente, nenhum dos procedimentos empregados para a remoção de água residual evitou a degradação do complexo de rutênio **64** durante a reação de RCD.

Além da formação de ácido acético durante a reação, outras substâncias ácidas como ácido benzóico e ácido sórbico que podem estar presentes no material em que a CALB está suportada também podem inativar o complexo de rutênio. Em um trabalho recentemente publicado[133] foram analisados diferentes lotes da CALB (Novozym 435), na qual foi observada a presença de diferentes substâncias orgânicas, e que a concentração destes compostos varia dependendo do lote analisado.

Durante a realização desta tese, foi publicado um trabalho em que os autores descrevem a síntese de um novo complexo de rutênio empregado como catalisador de racemização na reação de RCD do (*RS*)-feniletanol como mostrado no Esquema 3.23.[134]

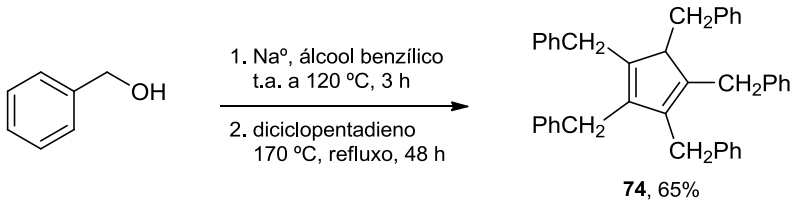


Esquema 3.23. RCD do (*RS*)-feniletanol utilizando CALB e o complexo de rutênio **73**.

Segundo os autores deste trabalho, o complexo de rutênio o qual possui grupos benzílicos ligados ao anel ciclopentadiênico seria mais estável que o catalisador de Bäckvall que possui grupos fenilas ligados ao anel ciclopentadiênico.

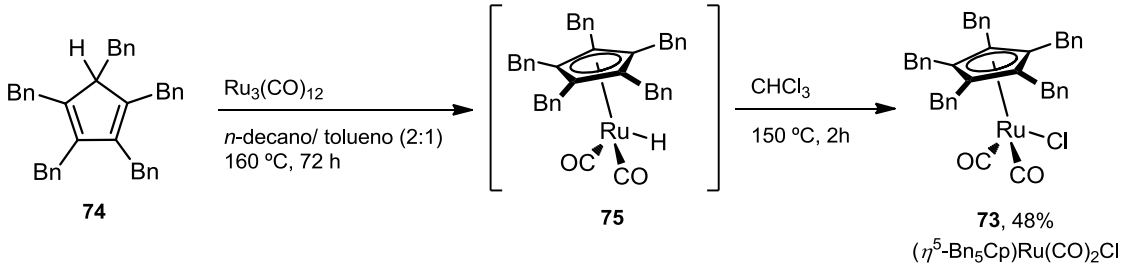
Assim, mantendo o objetivo inicial de aplicar as reações de RCD para os álcoois quirais contendo boro foi realizada então a síntese do complexo de rutênio **73** empregando a mesma metodologia descrita pelos autores, o qual é similar a metodologia descrita por Bäckvall, porém, utilizando o pentabenzilciclopentadieno (**74**) como material de partida.

O pentabenzilciclopentadieno (**74**) não é disponível comercialmente, desta forma, este reagente foi preparado através da reação do benzilato de sódio com ciclopentadieno (Esquema 3.24),[135] obtendo-se o produto desejado com 65% de rendimento.



Esquema 3.24. Síntese do pentabenzilciclopentadieno (**74**).

Com o pentabenzilciclopentadieno em mãos, foi possível preparar o complexo de rutênio **73** através da adição oxidativa do composto **74** ao átomo de Ru(0) empregado na forma de $Ru_3(CO)_{12}$. Esta reação ocorre em um tubo selado em elevada temperatura e longo tempo reacional, como mostrado no Esquema 3.25. O resultado desta reação é o intermediário **75**, que *in situ* é tratado com um excesso de clorofórmio levando ao complexo de rutênio **73**.

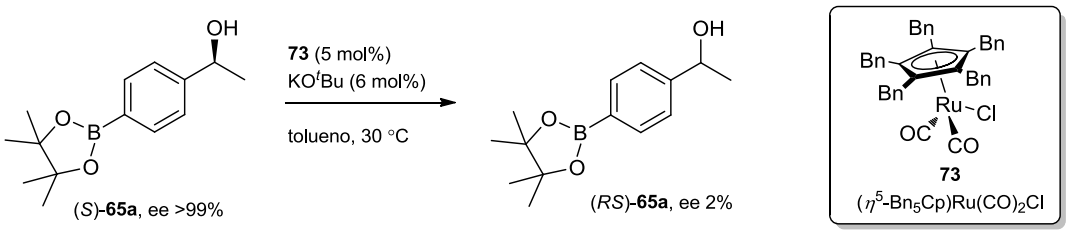


Esquema 3.25. Síntese do complexo de rutênio **73**.

O complexo de rutênio **73** foi obtido com 48% de rendimento e a sua estrutura confirmada por RMN de ^{1}H e ^{13}C e espectrometria de massas de alta resolução.

Com o catalisador em mãos, foi avaliada a atividade deste complexo na racemização do composto (*RS*)-**65a**. O álcool enantiomericamente enriquecido (*S*)-**65a** foi mantido sob agitação em tolueno na presença do complexo de rutênio **73** (5 mol%). Após 10 minutos, o

álcool **65a** apresentou um *ee* de 18%, e após 50 minutos de reação foi observado a quase total racemização do álcool **65a**. (Esquema 3.26)



Esquema 3.26. Processo de racemização do álcool (*S*)-**65a** pelo complexo de rutênio **73**.

Uma vez comprovada o poder de racemização do complexo de rutênio **73**, este foi empregado na reação de RCD utilizando o (*RS*)-feniletanol como substrato empregando as mesmas condições descritas no trabalho original.[134] Durante o curso da reação foi observado que a coloração castanha da reação, o qual significa que o catalisador está na sua forma ativa, permaneceu por um período maior que o observado com o catalisador de Bäckvall (**64**), porém, a coloração tornou-se verde após aproximadamente vinte minutos, mostrando que nem mesmo o complexo **73** foi estável na condição reacional empregada.

Alguns trabalhos recentes do grupo dos pesquisadores coreanos Jaiwook Park e Mahn-Joo Kim, os quais também estudam as reações de resolução cinética dinâmica de álcoois e aminas, relataram a síntese de novos complexos de rutênio.[136-139] Segundo estes autores os complexos obtidos por eles são mais estáveis que os complexos até então desenvolvidos, entretanto, esses complexos são menos ativos, necessitando tempos reacionais mais longos para a completa racemização do substrato. Adicionalmente, estes complexos utilizam o K_3PO_4 em vez do KO^{t}Bu para tornar estes complexos ativos. O K_3PO_4 é utilizado na mesma proporção molar do álcool quiral utilizado como substrato, e em alguns trabalhos publicados, altas concentrações de CALB são utilizadas.

Assim, em vez de realizar a síntese de outros complexos de rutênio, decidiu-se avaliar se a substituição do Na_2CO_3 pelo K_3PO_4 poderia favorecer a RCD utilizando os complexos **64** e **73**.

Levando em consideração que o K_3PO_4 é uma base mais forte que o Na_2CO_3 e desta forma poderia ser mais eficiente na captura do ácido acético formado durante a reação foi realizado um conjunto de experimentos para validar esta hipótese.

Inicialmente, em um frasco reacional foi adicionado a CALB, o feniletanol e o acetato de isopropenila em tolueno. A mistura reacional foi mantida sob agitação durante 30 minutos. Após este período uma alíquota foi retirada e analisada por cromatografia gasosa, em que foi observada a presença de acido acético. Mais dois experimentos foram realizados empregando os mesmos reagentes e adicionou-se a cada um deles um equivalente de

Na_2CO_3 e K_3PO_4 em relação ao feniletanol. Após 30 minutos foram retiradas alíquotas destes experimentos e analisados por cromatografia gasosa. No experimento em que foi adicionado o Na_2CO_3 observou-se a presença de ácido acético, entretanto, quando foi empregado K_3PO_4, não foi possível detectar o sinal referente ao ácido acético.

Assim, foi realizada novamente a RCD do feniletanol utilizando K_3PO_4 como base. Ambos os complexos de rutênio mantiveram sua atividade durante a reação de RCD do (*RS*)-feniletanol, e foi possível obter o produto acetilado com conversão acima de 97% e excelente excesso enantiomérico.

A ativação dos complexos de rutênio **64** e **73** não é possível apenas com a presença do K_3PO_4 no meio reacional como ocorre com os complexos de rutênio desenvolvidos por Park, Kim e colaboradores.[136-138]

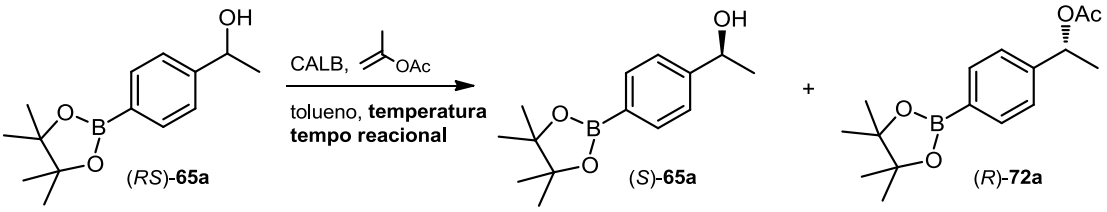
Embora o K_3PO_4 tenha se mostrado uma base eficiente durante a RCD do feniletanol, uma quantidade relativamente alta de CALB é necessária para a RCE dos álcoois contendo boro (100 mg de CALB para 1 mmol de substrato).

Desta forma, com o objetivo de diminuir a quantidade de CALB na reação foram investigadas algumas condições reacionais como mostrado na Tabela 3.6. Inicialmente foi realizada a reação de RCE do álcool (*RS*)-**65a** utilizando uma pequena quantidade de CALB em relação ao substrato (Tabela 3.6, linhas 1 a 3). As reações foram realizadas a 30 ºC, e observou-se que foi necessário um tempo reacional de 28 horas quando foi empregada 6 mg de CALB (30 mg de CALB para 1 mmol de substrato) para que se obtivesse 50% de conversão (linha 2). Aumentando a quantidade de CALB para 12 mg não foi observado um significativo decréscimo no tempo reacional, sendo necessárias 20 horas para obter uma conversão de 50% (linha 3).

Entretanto, um significante aumento na velocidade da reação foi observado com o aumento de apenas 10 ºC na temperatura reacional (linhas 8 e 9). Com 8 horas de reação foi possível obter o produto (*R*)-**72b** com 50% de conversão sem perda da enantiosseletividade (ee >99% para ambos os compostos).

Foi avaliada também a influência da concentração molar do substrato no tolueno (0,5 M ou 0,2 M), mas como observado na Tabela 3.6 (linhas 4 a 9), não houve diferenças tanto na conversão como na enantiosseletividade das reações.

Tabela 3.6. Influência das condições reacionais na RCE do álcool (*RS*)-**65a**.



#	(*RS*)-**65a** [M]	CALB (mg)	temperatura (ºC)	tempo (h)	ee (%)		*c* (%)[d]	*E*[e]
					(*S*)-**65a**[b]	(*R*)-**72a**[c]		
1	0,5	6	30	20	93	>99	48	>200
2	0,5	6	30	28	>99	>99	50	>200
3	0,5	12	30	20	>99	>99	50	>200
4	0,5	6	40	4	92	>99	48	>200
5	0,2	6	40	4	88	>99	47	>200
6	0,5	6	40	6	97	>99	49	>200
7	0,2	6	40	6	95	>99	49	>200
8	0,5	6	40	8	>99	>99	50	>200
9	0,2	6	40	8	99	>99	50	>200

[a] Condição reacional: substrato (0,2 mmol), CALB (6 ou 12 mg), acetato de vinila (0,3 mmol), tolueno (1 mL), 700 rpm;
[b] Determinado por CLAE com fase estacionária quiral;
[c] Determinado por CG com fase estacionária quiral;
[d] Conversão: $c = ee_S/(ee_S + ee_P)$;
[e] Enantiosseletividade: $E = \ln[ee_P(1-ee_S)]/(ee_P+ee_S) / \ln[ee_P(1+ee_S)]/(ee_P+ee_S)$.

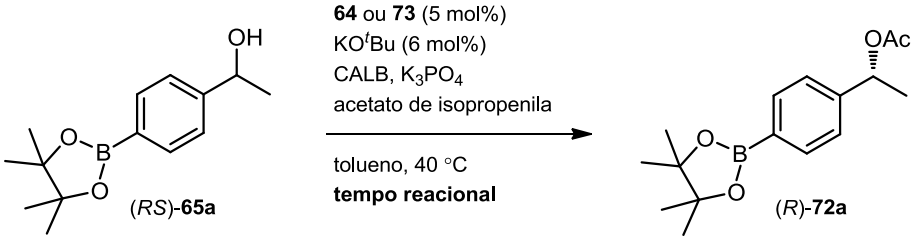
Com estes resultados foi então avaliado a RCE quimio-enzimática do álcool contendo boro (*RS*)-**65a** na melhor condição reacional encontrada (Tabela 3.6, linha 9) na presença de K_3PO_4. Também foram avaliados os dois complexos de rutênio (**64** e **73**).

Como pode-se observar na Tabela 3.7, os dois complexos de rutênio mostraram atividades similares na racemização do álcool **65a**, sendo que o complexo de rutênio **73** mostrou-se mais ativo, contrariando o que foi observado durante os testes de racemização e até mesmo o que é descrito na literatura. Esta observação pode estar relacionada a estabilidade dos complexos de rutênio. Como o complexo de rutênio **73** é mais estável no meio reacional, há mais moléculas ativas deste complexo do que moléculas ativas do complexo de rutênio **64**. Um fato experimental que comprova a baixa estabilidade do complexo **64** foi que após 20 horas de reação (linha 3) a coloração da reação tornou-se verde, o que caracteriza a inativação do complexo de rutênio. Enquanto o a coloração da reação realizada na presença do complexo **73** manteve-se castanho escuro por mais de 44 horas de reação (linha 5).

Com relação à conversão, como seria esperado, após 8 horas de reação o produto acetilado (*R*)-**72a** havia sido formado com 50% de conversão, tanto na reação realizada na

presença do complexo **64** quanto na presença do complexo **73** (linhas 1 e 2). Após 20 horas de reação as conversões foram medidas novamente, porém, como esperado o produto acetilado não havia sido totalmente convertido. Os valores de conversão foram 68% para a reação contendo o complexo **64** e 71% para a reação contendo o complexo **73**. A reação contendo o complexo **73** foi mantida por mais 20 horas, porém, não foi observado um aumento significativo na conversão, sendo que o produto acetilado foi obtido com 82% de conversão.

Tabela 3.7. Resolução cinética dinâmica quimio-enzimática do álcool (*RS*)-**65a**.



#	complexo de Ru	CALB (mg)	tempo (h)	ee (%)		*c* (%)[d]
				(*S*)-**65a**[b]	(*R*)-**72a**[c]	
1	**64**	6	8	56	>99	48
2	**73**	6	8	25	>99	50
3	**64**	6	20	18	>99	68
4	**73**	6	20	2	>99	71
5	**73**	6	44	0	>99	82
6	**73**	12	20	0	>99	83

[a] Condição reacional: substrato (0,2 mmol), CALB (6 ou 12 mg), acetato de vinila (0,3 mmol), complexo de rutênio (5 μmol), KO^{t}Bu (1M em THF, 6 μmol), K_3PO_4 (0,2 mmol) tolueno (1 mL).
[b] Determinado por CLAE com fase estacionária quiral;
[c] Determinado por CG com fase estacionária quiral;
[d] Conversão: determinada por CG aquiral

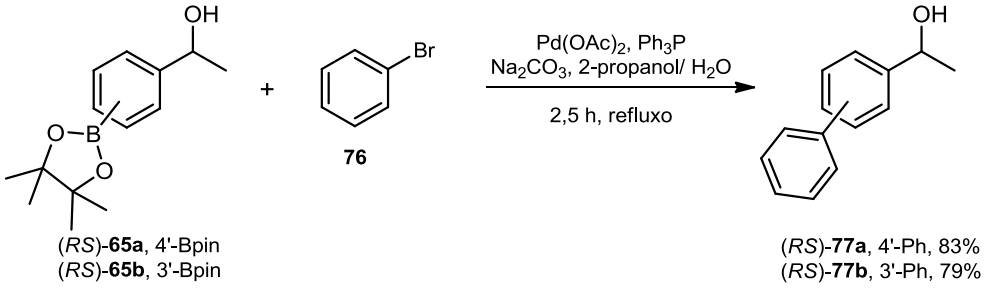
Aumentando a quantidade de lipase no meio reacional (12 mg) não levou a um significativo aumento na conversão da reação, sendo que o produto acetilado foi obtido com 83% de conversão.

3.2.5. Determinação da configuração absoluta dos álcoois e ésteres obtidos

Para a determinação da configuração absoluta dos produtos acetilados **72a-f**, bem como dos álcoois remanescente **65a-f**, obtidos com excelente enantiosseletividade (ee >99%) nas reações de resolução cinética enzimática poderia-se empregar o método de Mosher, o qual utiliza um reagente de derivatização quiral e posterior análise por RMN de ^{1}H.[140] Entretanto, uma segunda alternativa seria transformar um dos compostos enantiopuros obtidos em um composto que já tivesse sua configuração absoluta reportada na literatura, bem como os dados de rotação específica ou a ordem de eluição dos enantiômeros quando empregada uma técnica de cromatográfica utilizando uma fase estacionária quiral.

Para a determinação da configuração absoluta dos álcoois **65a** e **65b** e de seus respectivos ésteres **72a,b** optou-se em empregar os compostos **65a,b** (ee >99%) como substratos em uma reação de acoplamento cruzado do tipo Suzuki-Miyaura. Os álcoois bifenílicos que seriam formados possuem dados existentes na literatura sobre suas configurações absolutas.

Desta forma, foi realizado inicialmente a reação de acoplamento dos álcoois (*RS*)-**65a,b** com bromobenzeno (**76**) na presença de $Pd(OAc)_2$ e Ph_3P.[141] Os álcoois bifenílicos **77a,b** foram obtidos com bons rendimentos, como mostrado no Esquema 3.27.



Esquema 3.27. Síntese dos álcoois bifenílicos (*RS*)-**77a,b** a partir dos álcoois (*RS*)-**65a,b** através da reação de acoplamento cruzado do tipo Suzuki-Miyaura.

O próximo passo foi realizar a reação descrita acima utilizando os álcoois **66a,b** enantiomericamente puros (ee >99%) como substratos.

A configuração absoluta dos álcoois bifenílicos **77a,b** foi atribuída como sendo de configuração-(*S*) após a comparação entre os valores de rotação específica obtidos com os descritos na literatura.[142] Os valores de rotação específica obtidos, bem como os valores reportados para os álcoois (*S*)-**77a,b** são mostrados na Figura 3.10.

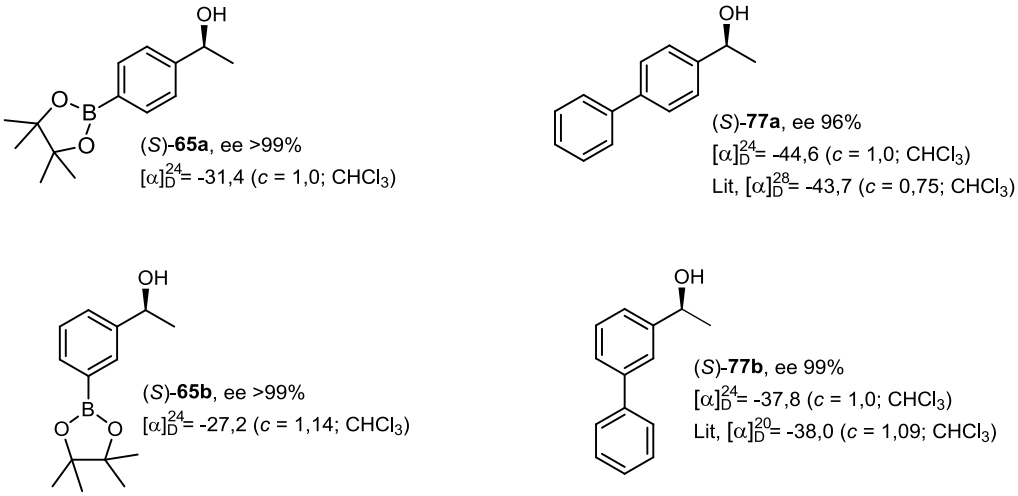


Figura 3.10. Valores de rotação específica dos álcoois (*S*)-**65a,b** e (*S*)-**77a,b**.

Analisando o cromatograma obtido por análise em CLAE foi observado uma pequena estereoinversão durante a reação de acoplamento, uma vez que partindo do álcool (S)-**65a** com ee >99%, o álcool bifenílico (S)-**77a** foi obtido com 96% de excesso enantiomérico. Para o álcool **77a** já havia sido reportado um método de separação dos enantiômeros por CLAE utilizando-se de uma fase estacionário quiral.[143] Assim, também foi possível atribuir a configuração absoluta pela ordem de eluição dos enantiômeros, em que o enantiômero-(*S*) possui um menor tempo de retenção do que o enantiômero-(*R*) (Figura 3.11).

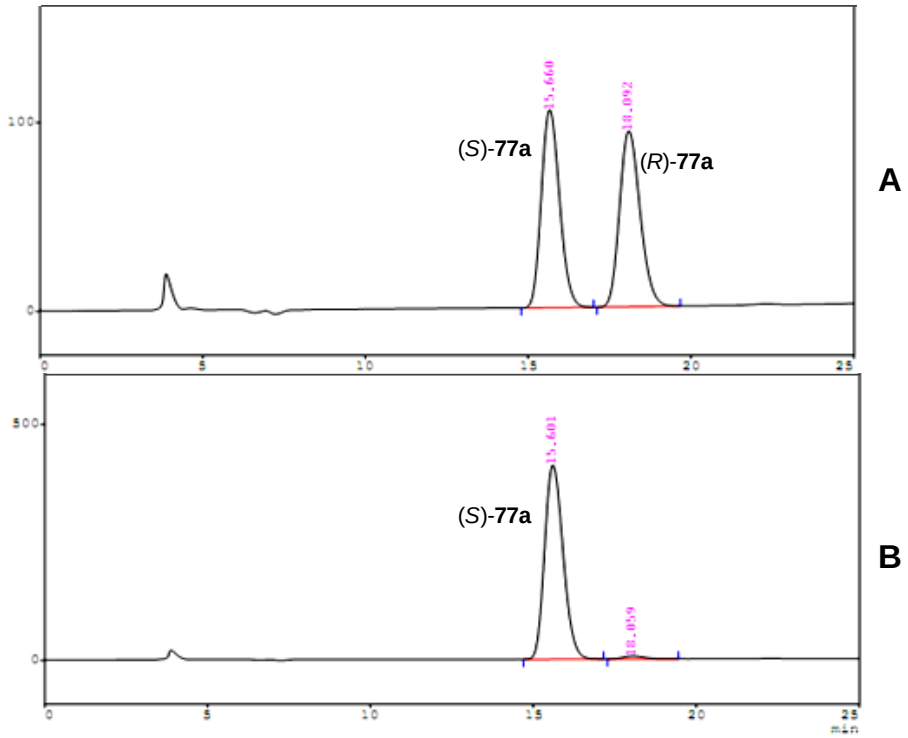


Figura 3.11. Cromatograma obtido por análise de CLAE do composto (*RS*)-**77a** (cromatograma **A**), e o cromatograma obtido do composto (*S*)-**77a** preparado a partir do substrato (*S*)-**65a** (cromatograma **B**).

Já para o álcool **77b** não foi encontrado na literatura dados com respeito à separação dos seus enantiômeros. Porém, utilizando o mesmo método cromatográfico foi possível realizar a separação dos enantiômeros como pode ser observado na Figura 3.12.

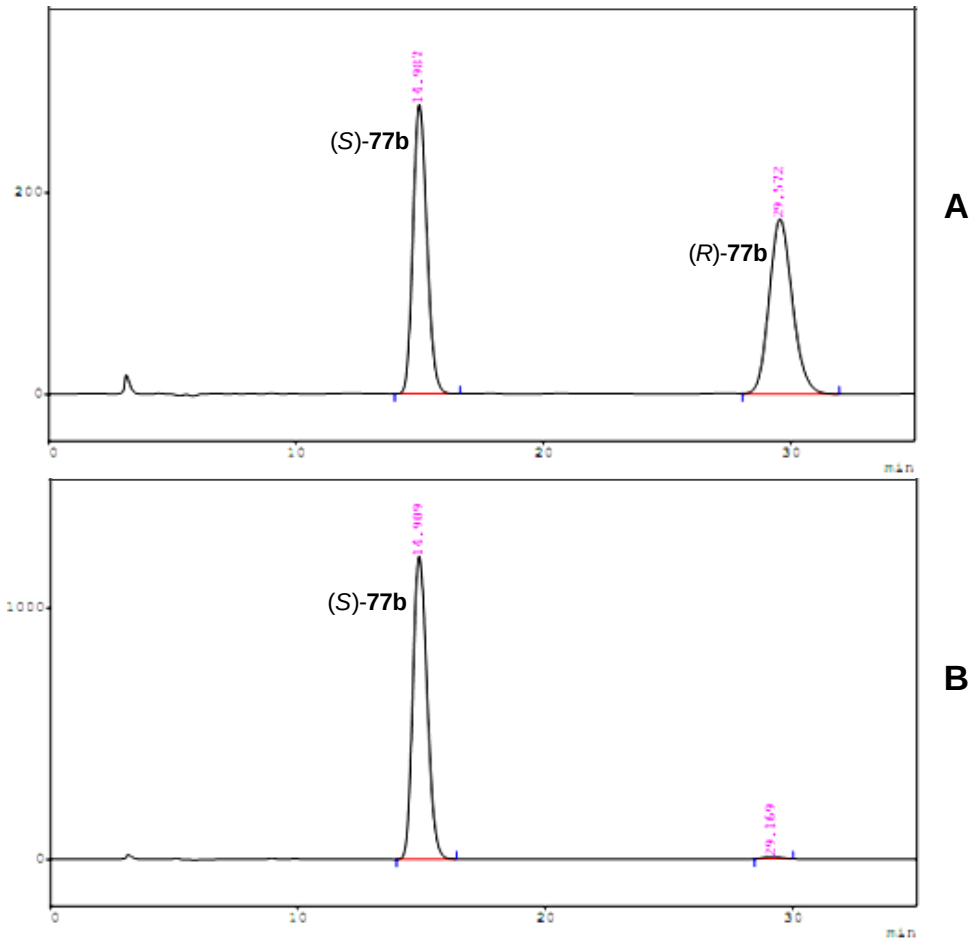
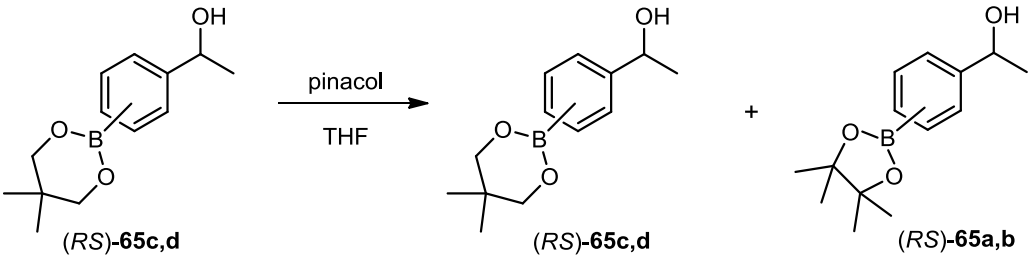


Figura 3.12. Cromatograma obtido por análise de CLAE do composto (*RS*)-**77b** (cromatograma **A**), e o cromatograma obtido do composto (*S*)-**77b** preparado a partir do substrato (*S*)-**65b** (cromatograma **B**).

Uma vez que a configuração absoluta dos álcoois (*S*)-**65a**,**b** já havia sido atribuída e a ordem de eluição, bem como os tempos de retenção para cada um dos enantiômeros já havia sido estabelecida, a configuração absoluta dos álcoois **65c,d** (ee >99%) foi determinada a partir da transformação dos álcoois enantiopuros **65c,d** nos respectivos álcoois **65a,b** através da reação de transesterificação com pinacol.

A transesterificação do grupamento éster borônico derivado do álcool neopentílico com pinacol levou a formação de uma mistura dos dois diferentes ésteres borônicos como mostrado no Esquema 3.28.



Esquema 3.28. Transesterificação dos ésteres borônicos **65c**,**d** com pinacol para determinação da configuração absoluta.

Após foi realizado o mesmo procedimento com os álcoois enantiopuros **65c,d**, e os produtos obtidos analisados por CLAE. Os tempos de retenção para os compostos **65a**,**b** obtidos após a reação de transesterificação foram comparados com os tempos de retenção dos seus respectivos padrões. Como pode-se observar nos cromatogramas obtidos por CLAE representados nas Figuras 3.13 e 3.14, os álcoois (*S*)-**65a,b** foram obtidos a partir dos álcoois (*S*)-**65c,d**. Portanto, os enantiômeros de configuração-(*R*) foram acetilados preferencialmente pela lipase.

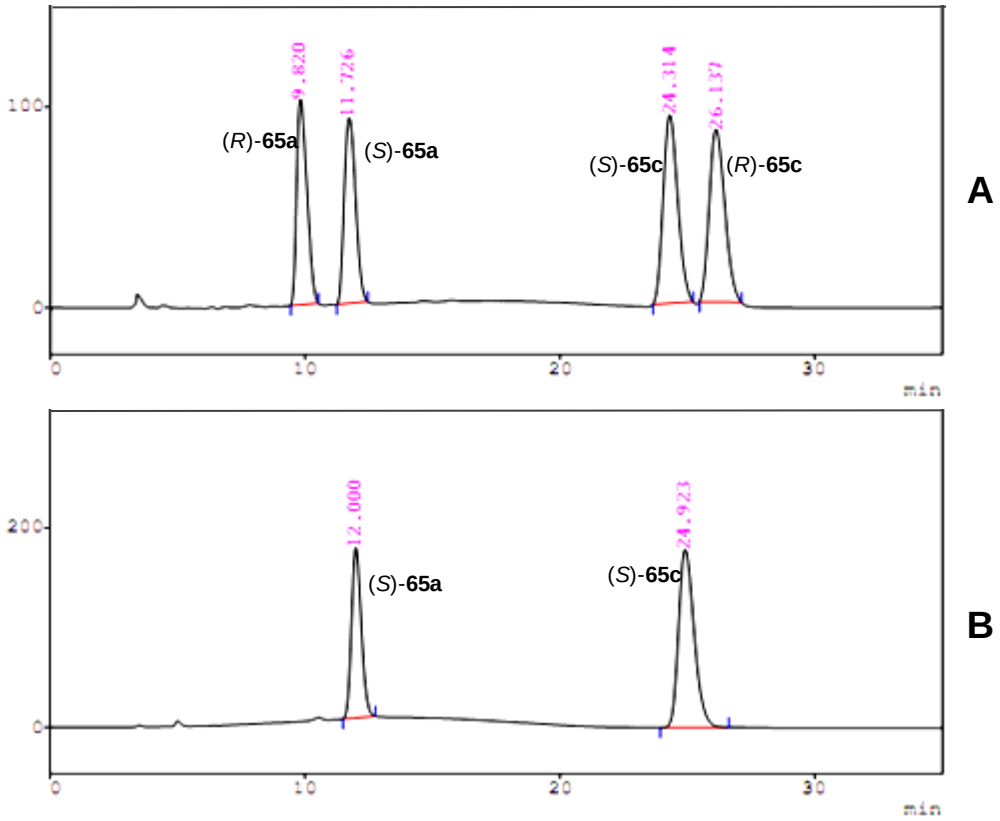


Figura 3.13. Cromatograma obtido por análise de CLAE da mistura dos álcoois (*RS*)-**65a** e (*RS*)-**65c** (cromatograma **A**), e o cromatograma obtido da reação de transesterificação do álcool (*S*)-**65c** com pinacol, que resultou na mistura dos álcoois (*S*)-**65a** e (*S*)-**65c** (cromatograma **B**).

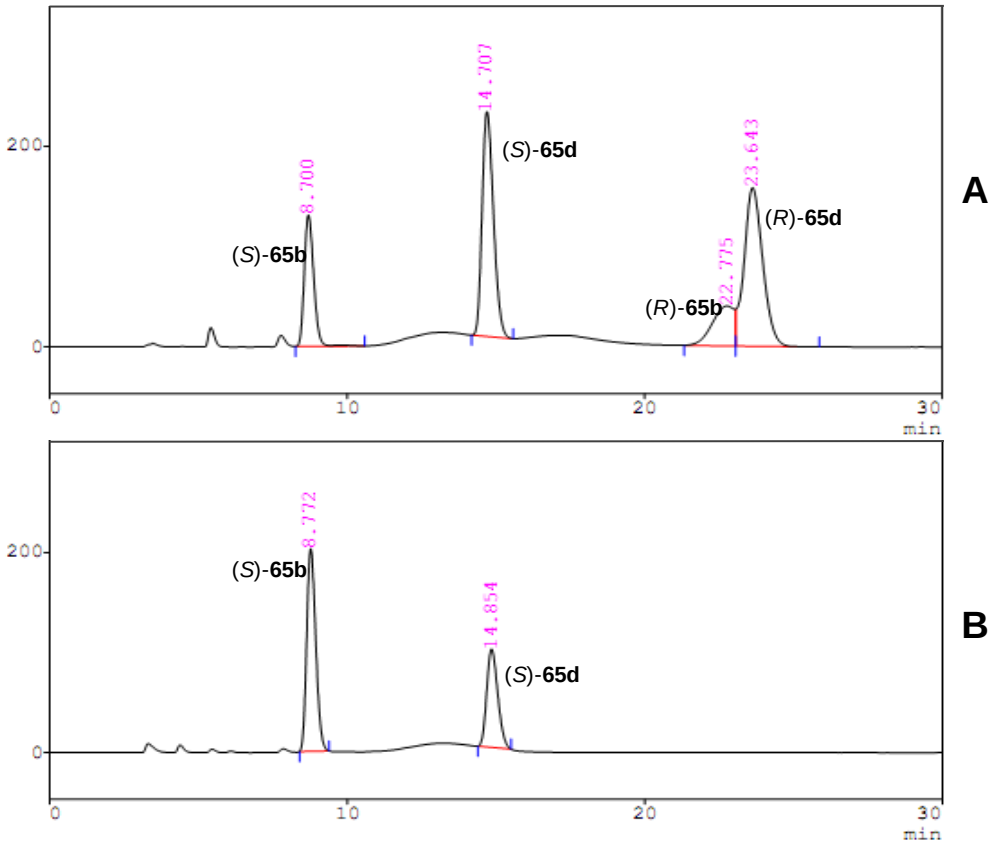
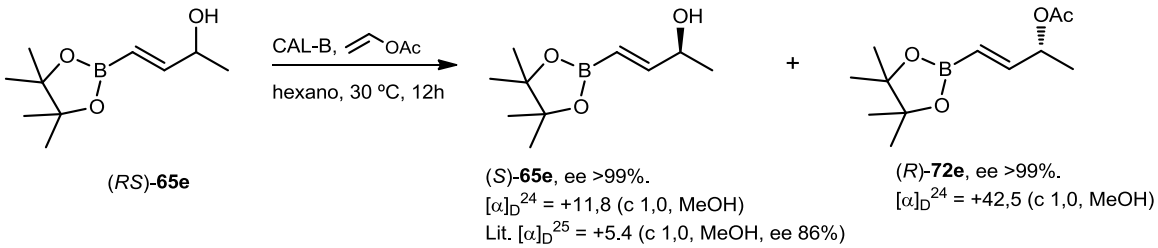


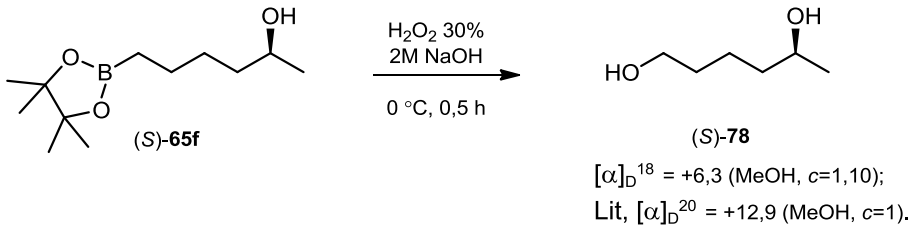
Figura 3.14. Cromatograma obtido por análise de CLAE da mistura dos álcoois (*RS*)-**65b** e (*RS*)-**65d** (cromatograma **A**), e o cromatograma obtido da reação de transesterificação do álcool (*S*)-**65d** com pinacol, que resultou na mistura dos álcoois (*S*)-**65b** e (*S*)-**65d** (cromatograma **B**).

Para determinar a configuração absoluta do álcool **65e** e do éster **72e** obtidos após a reação de RCE, foi comparado o valor da rotação específica do álcool enantiopuro **65e** (ee >99%) com o valor descrito na literatura, já que a síntese enantiosseletiva do álcool (*S*)-**65e** já havia sido descrita.[128] A partir destes valores foi possível atribuir a configuração-(*S*) ao enantiômero remanescente e, portanto, a configuração-(*R*) ao enantiômero acetilado preferencialmente pela lipase (Esquema 3.29).



Esquema 3.29. RCE do álcool (*RS*)-**65e** e a atribuição das configurações absolutas.

Como os compostos **65f** e **72f** ainda não haviam sido descritos, decidiu-se realizar uma transformação química que levasse a um composto com configuração absoluta conhecida. Desta forma, transformou-se o composto **65f** com pureza enantiomérica >99% ao 2,5-hexanodiol (**78**) através da reação de oxidação do grupamento éster borônico à correspondente função álcool, realizada em meio básico na presença de H_2O_2.[144] A medida de rotação específica para o diol obtido foi comparada com os dados já descritos[145] desta forma, foi possível atribuir a configuração absoluta para o enantiômero do substrato **65f** que não reagiu como sendo o de configuração-(*S*) como mostrado no Esquema 3.30



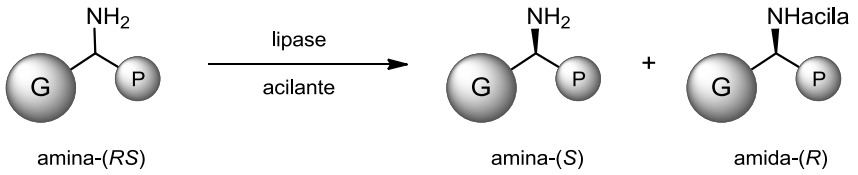
Esquema 3.30. Reação de oxidação do grupamento éster borônico do substrato (*S*)-**65f** levando a formação do (*S*)-2,5-hexanodiol (**78**).

4. Resolução cinética enzimática de aminas primárias contendo boro

4.1. Introdução

4.1.1. Resolução cinética enzimática de aminas

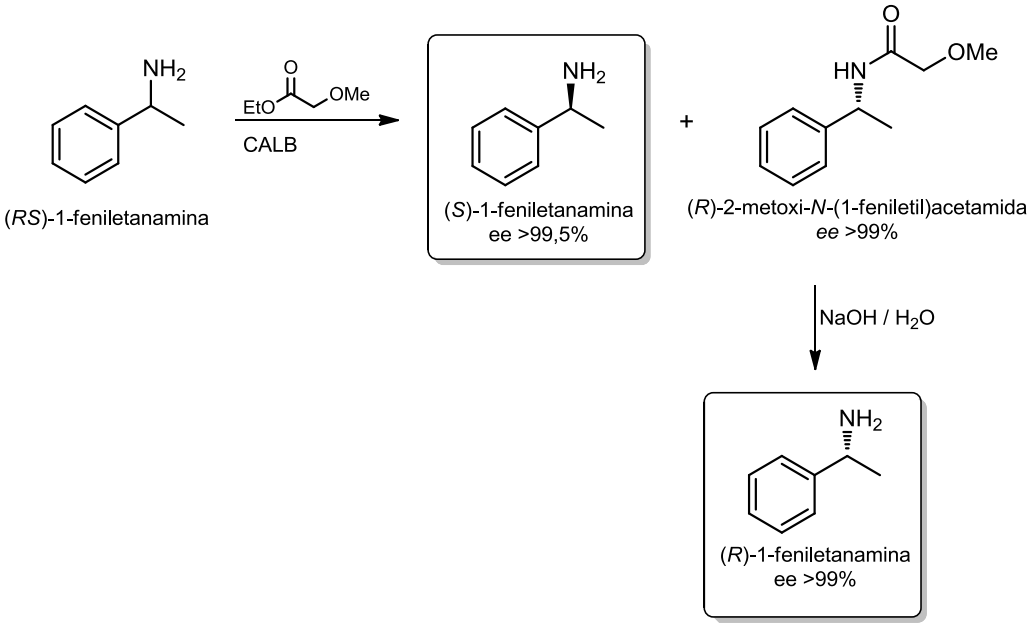
Da mesma forma que racematos de álcoois quirais podem ser resolvidos enzimaticamente através de uma reação de acilação enantiosseletiva mediada por lipases, aminas e amidas opticamente ativas também podem ser obtidas através desta metodologia (Esquema 4.1).[146-147]



Esquema 4.1. Esquema geral de uma resolução cinética enzimática de uma amina primária.

Aminas opticamente ativas e seus derivados, as amidas, fazem parte de uma importante classe de compostos em síntese orgânica, e são frequentemente empregadas como intermediários na síntese de moléculas mais complexas. No caso das aminas, estas são também utilizadas como agentes de resolução e auxiliares quirais em reações assimétricas.[148-149],

A obtenção de aminas opticamente ativas através da acilação enantiosseletiva mediada por lipases passou a ser estudada com mais intensidade no final da década de 1980, e com a disponibilidade comercial de diferentes lipases logo no início da década de 1990 alguns processos industriais passaram a utilizar esta metodologia. Um exemplo disso é a produção de diversas aminas enantiomericamente puras pela empresa BASF,[150] Neste processo, diferentes aminas são obtidas com alto grau de pureza óptica através da RCE mediada pela lipase de *Candida antarctica* (CALB) e utilizando o 2-metoxiacetato de etila como reagente acilante. As amidas formadas são hidrolisadas, levando ao outro enantiômero das aminas (Esquema 4.2). Alguns exemplos de aminas submetidas a este processo são mostradas na Figura 4.1, sendo que alguns compostos são preparados em uma escala de até mil toneladas ao ano.



Esquema 4.2. Processo industrial da BASF para a produção de aminas enantiomericamente puras representado pela RCE do (*RS*)-1-feniletanamina e posterior hidrólise do éster formado.

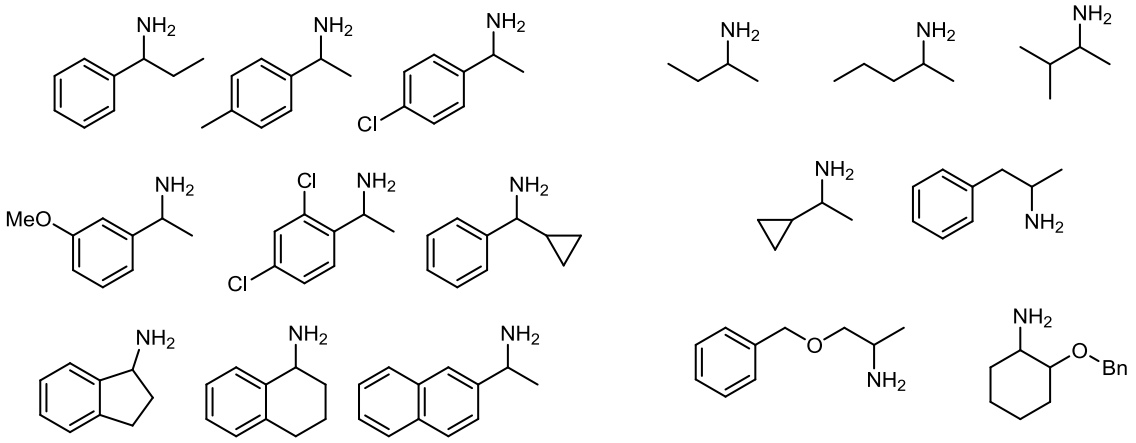


Figura 4.1. Exemplos de aminas quirais submetidas ao processo de RCE desenvolvida pela BASF.

A acilação enantiosseletiva de aminas catalisada por lipases também ocorre pelo mesmo mecanismo de acilação de álcoois, e a enantiopreferência é a mesma observada para os álcoois, seguindo assim o modelo proposto por Kazlauskas.[110]

No entanto, devido à maior nucleofilicidade do grupo amina, doadores de acila comumente utilizados na RCE de álcoois, como os acetatos de vinila, não podem ser empregados. Desta forma, é necessário o uso de doadores de acila menos reativos, evitando assim a acilação não enzimática e, consequentemente, não seletiva da amina.[151]

Uma grande variedade de doadores de acila vem sendo estudados e entre eles acetato de etila é o mais utilizado devido ao seu baixo custo e por possibilitar o seu uso

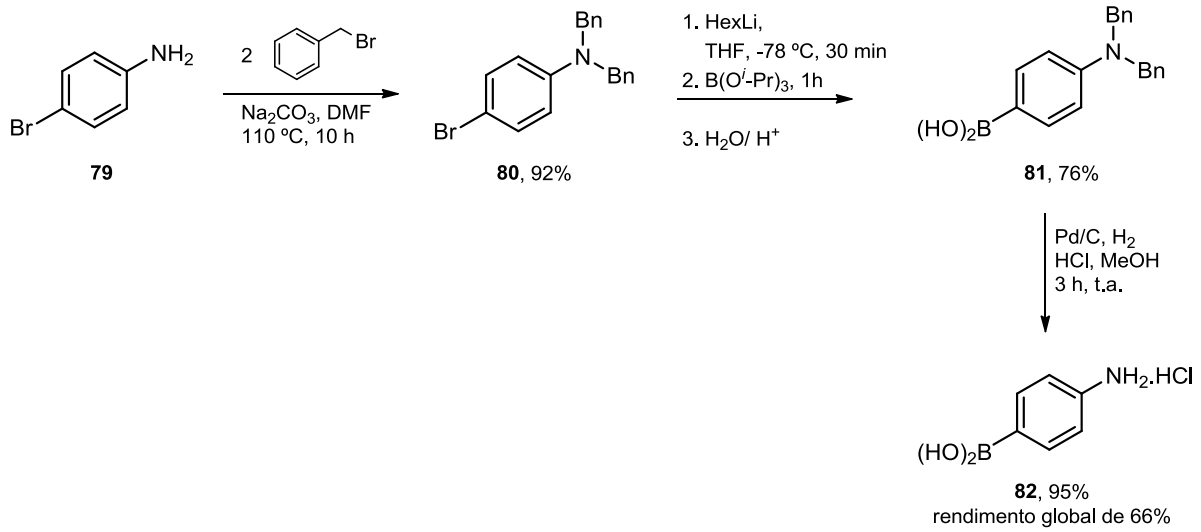
como solvente da reação. Outros doadores de acila como acetatos de alquila de cadeia longa, metoxiacetato de etila e carbonatos de dimetila e dibenzila são também empregados.

4.1.2. Síntese e aplicação de aminas contendo boro

Aminas e seus derivados contendo o grupamento ácido ou éster borônico vêm sendo consideradas como promissores blocos de construção em síntese orgânica. Um grande número de aminas ou amidas contendo grupamentos organoborônicos são disponibilizadas comercialmente. Outro fator que ilustra a versatilidade destes compostos como blocos de construção é o elevado número de patentes publicadas descrevendo a síntese e a aplicação destes compostos para a preparação de moléculas bioativas. Por outro lado, há poucos relatos sobre a preparação destes compostos publicados em periódicos científicos. É importante salientar, que nenhuma das aminas comercializadas são enantiomericamente puras ou enriquecidas.

A síntese de ácidos ou ésteres borônicos geralmente envolve a reação de intermediários organometálicos, obtidos pela reação de haletos de arila com um organomagnésio ou organolítio, com um eletrófilo de boro.[70] Como um grande número de aminas arílicas contendo halogênio (bromo ou iodo) na molécula são disponíveis comercialmente, estas aminas são usualmente empregadas como reagentes de partida. Mas devido à reatividade do grupo amino frente a reagentes organometálicos, a síntese destes compostos através desta metodologia exige alguns passos reacionais de proteção e desproteção do grupo amino.

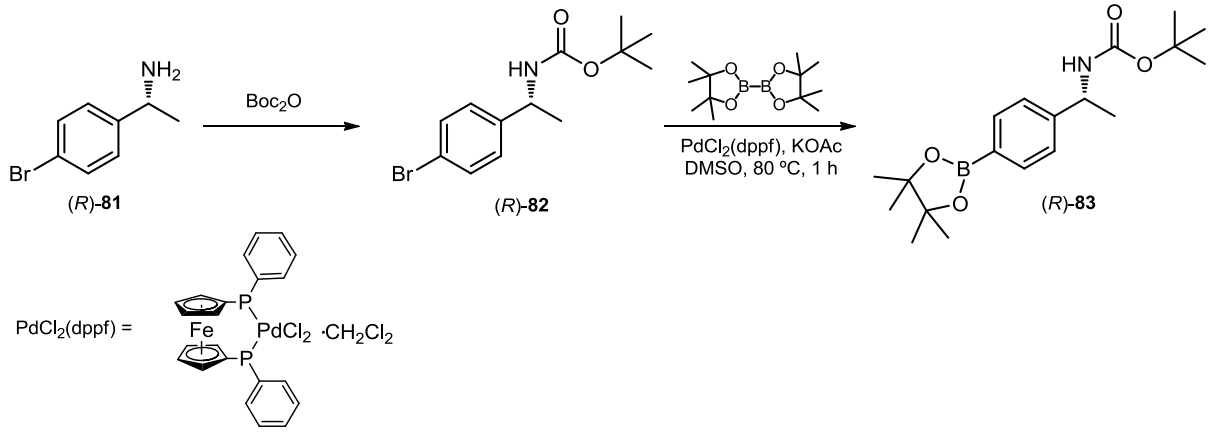
Um exemplo desta abordagem sintética é a rota desenvolvida e patenteada pela empresa Clariant para a produção de anilinas contendo ácidos borônicos,[152] como por exemplo a síntese do ácido 4-aminofenilborônico (**82**) mostrada no Esquema 4.3. Inicialmente, a 4-bromoanilina (**78**) tem o grupamento amino protegido através de uma reação de dibenzilação levando a amina protegida **79**. No segundo passo, através da reação entre um intermediário organometálico, formado pela reação entre a amina **79** e hexilítio, com o triisopropilboronato obtem-se o ácido borônico **80**. A desproteção do grupo amino pode ser realizada pela reação de hidrogenólise catalisada por Pd/C, levando a formação do cloridrato do ácido 4-aminofenilborônico (**82**).



Esquema 4.3. Síntese do ácido 4-aminofenilborônico (**82**).

Uma segunda metodologia para a síntese de aminas contendo grupamentos organoborônicos é através da reação de borilação de Miyaura.[83] Um exemplo do uso dessa metodologia é a síntese do éster pinacólico do ácido 4-(1-butoxicarbonilamino)fenilborônico [(*R*)-**83**] (Esquema 4.4), o qual foi preparado como intermediário para síntese de moléculas antagonistas da bradiquinina, um potente peptídio vasodilatador.[153]

Nesta rota sintética, o grupo amino da (*R*)-(4-bromofenil)etilamina (**81**), o qual é disponível comercialmente, é protegido na forma do carbamato **82**, que em um segundo passo sofre a reação de borilação utilizando catalisada pelo complexo de paládio $PdCl_2$(ddpf).



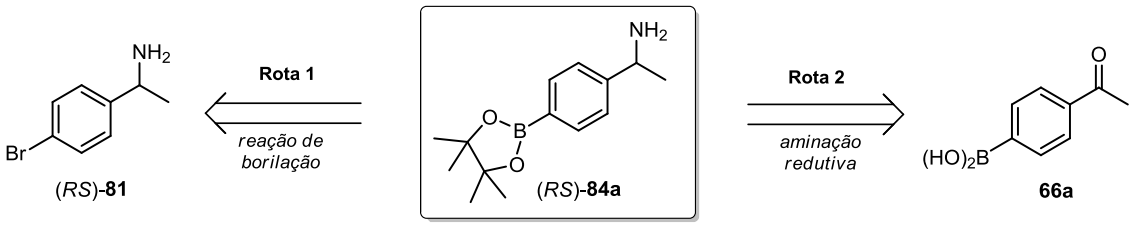
Esquema 4.4. Síntese do éster pinacólico do ácido 4-(1-butoxicarbonilamino)fenilborônico [(*R*)-**83**].

4.2. Apresentação e discussão dos resultados

4.2.1. Síntese de aminas primárias quirais contendo boro

Com os bons resultados obtidos na resolução cinética enzimática dos álcoois contendo o grupamento éster borônico, o próximo passo deste estudo foi avaliar a reação de acilação enantiosseletiva mediada por lipases em aminas primárias quirais contendo boro.

Para os estudos iniciais, planejou-se a síntese da amina contendo boro **84a**, que poderia ser obtida por duas rotas sintéticas distintas. A primeira opção seria empregar as metodologias já descritas, utilizando como material de partida a 1-(4-bromofenil)etanamina (**81**), que após a proteção do grupo amino poderia ser realizado a inserção do átomo de boro via um intermediário organometálico ou através da reação de borilação. A desproteção do grupamento amino levaria então a amina desejada (Esquema 4.5, Rota 1). Uma segunda opção seria utilizar como estratégia sintética a reação de aminação redutiva do grupamento cetona presente no ácido 4-acetilfenilborônico (**66a**) (Esquema 4.5, Rota 2). Neste caso, o produto desejado poderia ser obtido em apenas um passo reacional.



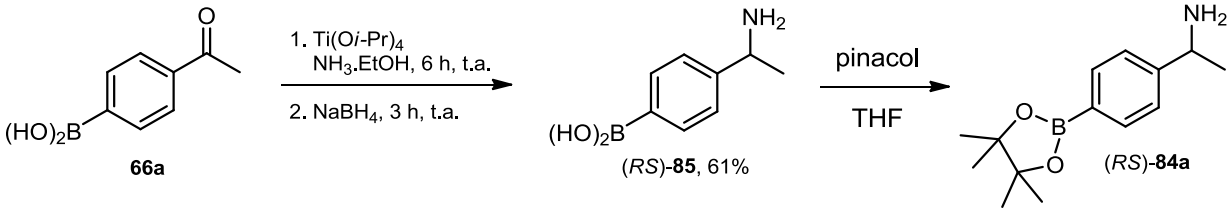
Esquema 4.5. Possíveis rotas sintéticas para a preparação do éster pinacólico do ácido 4-(1-aminoetil) fenilborônico **84a**.

Dentre as diferentes metodologias de aminação redutiva descritas para a preparação de aminas primárias, foi escolhido inicialmente o método descrito por Miriyala e colaboradores,[154] que faz uso de tetraisopropóxido de titânio [Ti(O*i*-Pr)$_4$] como ácido de Lewis e uma solução de amônia em etanol. O intermediário imínico formado é posteriormente reduzido na presença de $NaBH_4$, levando a formação da amina primária desejada.

Na primeira reação realizada, o ácido 4-acetilfenilborônico (**66a**) foi submetido à reação de aminação redutiva seguindo o protocolo descrito pelos autores. O substrato **66a** (2 mmol), 2 equivalentes de Ti(O*i*-Pr)$_4$ e uma solução de amônia em etanol (5 equivalentes de amônia) foram mantidas sob agitação por um período de 6 horas. Após foi adicionado $NaBH_4$, e após 3 horas de reação realizou-se o término (*work-up*) da reação.

Para o término da reação, inicialmente seguiu-se o procedimento descrito no trabalho o qual é realizado em meio básico com a adição de uma solução aquosa de NH_4OH.

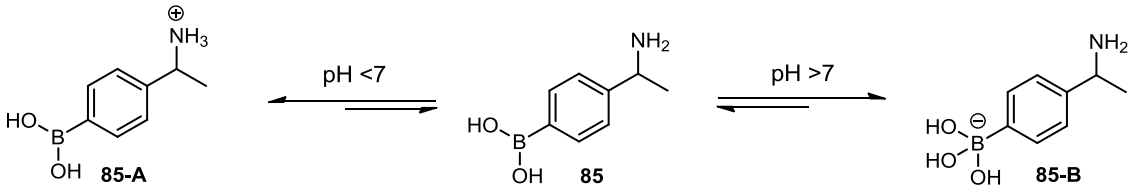
Após o procedimento de extração, apenas 35 mg (10 % em rendimento) do produto bruto foi obtido. Por análise em cromatografia em camada delgada (CCD) observou-se uma única mancha, o qual era diferente do reagente de partida **66a**. Sabendo-se que o grupamento ácido borônico é quaternizado na presença de meio básico levando a formação de uma estrutura aniônica (complexo ato), e assim aumentando sua solubilidade em meio aquoso, o pH do meio aquoso foi levado a pH 7, e novamente extraído com solvente orgânico (éter etílico). Após este procedimento foi obtido mais 20 mg (6 %) do mesmo material. O pH da solução aquosa foi levado a pH = 1, e novamente extraída com solvente orgânico. Nestas condições foi possível obter 115 mg (45 %) do produto bruto, totalizando um rendimento de 61% (Esquema 4.6).



Esquema 4.6. Aminação redutiva do ácido 4-acetilfenilborônico (**66a**).

Para confirmar a estrutura do produto obtido cada uma das frações obtidas foi submetido à reação de esterificação com pinacol, levando a formação do éster pinacólico do ácido 4-(1-aminoetil)fenilborônico (Esquema 4.6), que teve sua estrutura química confirmada por RMN de ^{1}H e ^{13}C.

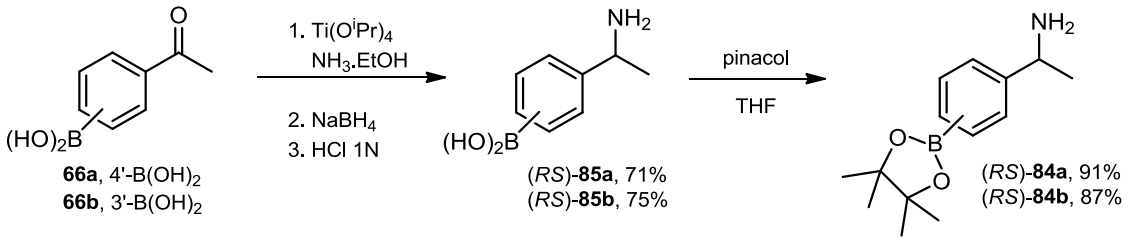
Com estas informações pode-se deduzir que a solubilidade do composto (*RS*)-**85** é menor em meio aquoso quando o pH da solução é <7, ou seja, quando o grupamento ácido borônico está na sua forma neutra (**85-A**), mesmo que o grupamento amino esteja na forma de íon amônio, sendo então mais solúvel em meio aquoso quando na forma aniônica (**85-B**) que é a forma predominante em pH >7 (Esquema 4.7).



Esquema 4.7. Equilíbrios de quaternização do ácido borônico (pH >7) e formação do íon amônio (pH < 7).

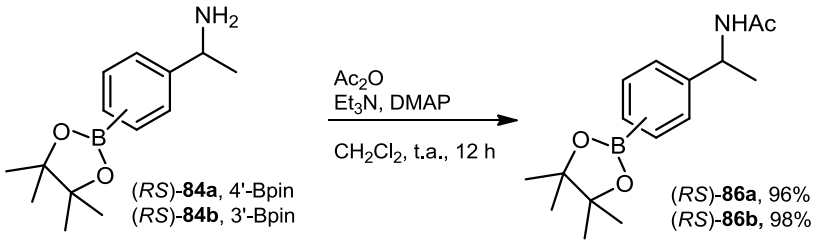
Assim, foi novamente realizada a reação de aminação redutiva do ácido 4-acetilfenilborônico (**66a**), porém, no *workup* da reação foi adicionada uma solução aquosa 1M de HCl até alcançar um pH = 1. Desta forma, após a extração em meio ácido foi possível obter o produto bruto com 71 % de rendimento. Após esterificação com pinacol o produto final foi obtido com um rendimento de 64% de rendimento após os dois passos reacionais (Esquema 4.8).

A reação de aminação redutiva bem como extração em meio ácido foi empregada na preparação do análogo (*RS*)-**84b** onde o grupo éster pinacolilborônico está na posição 3 do anel aromático em relação ao grupo amino. Da mesma forma, o produto bruto **85b** obtido após a reação de aminação redutiva apresentava-se como uma única mancha em CCD, e foi obtido com 75% de rendimento. Após a reação de esterificação com pinacol, o produto desejado (*RS*)-**84b** foi obtido com 65% de rendimento após os dois passos reacionais (Esquema 4.8).



Esquema 4.8. Aminação redutiva dos ácidos 4- e 3-acetilfenilborônicos (**66a,b**) seguido da esterificação do grupo ácido borônico com pinacol.

As amidas (*RS*)-**86a,b** foram preparadas através da reação de acetilação utilizando o método usual de acetilação o qual emprega anidrido acético na presença das bases 4-dimetilaminopiridina (DMAP) e Et_3N. As amidas foram obtidas com 96 e 98% de rendimento após purificação por coluna cromatográfica (Esquema 4.9).



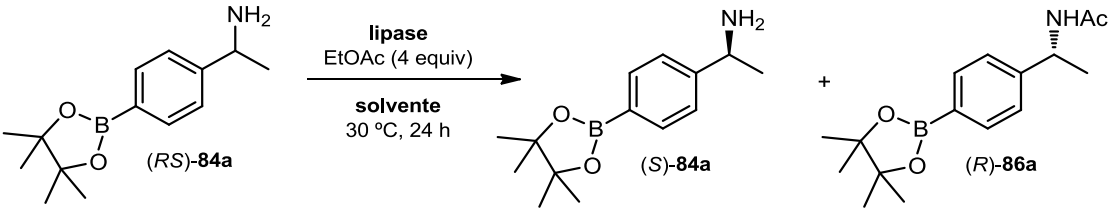
Esquema 4.9. Reação de acetilação dos ésteres pinacólicos dos ácido 4- e 3-(1-aminoetil) fenilborônicos [(*RS*)-**86a,b**].

4.2.2. Resolução cinética enzimática das aminas primárias quirais contendo boro

Embora os resultados descritos na literatura mostrem que a lipase de *C. antarctica* (CALB) é a que apresenta a melhor atividade catalítica na RCE de aminas primárias, inicialmente avaliou-se também a atividade das lipases de *P. cepacia* (PS-CII e PS-DI) na reação de RCE da amina contendo boro (*RS*)-**84a**.

Estas reações foram realizadas em hexano e em tolueno em uma temperatura de 30 ºC durante 24 horas. Os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 4.1

Tabela 4.1. Avaliação da atividade catalítica das lipases de *C. antarctica* (CALB) e *P. cepacia* (PS-CII e PS-DI) na RCE da amina (*RS*)-**84a**.



#	fonte de lipase	solvente	ee (%)		*c*. (%)[d]	*E*[e]
			(*S*)-**84a**[b]	(*R*)-**86a**[c]		
1	*C. antarctica* (CALB, Novozym 435)	hexano	25	>99	20	>200
2		tolueno	19	>99	16	>200
3	*P. cepacia* (PS-CII)	hexano	8	>99	7	>200
4		tolueno	6	>99	6	>200
5	*P. cepacia* (PS-DI)	hexano	5	>99	5	>200
6		tolueno	2	>99	2	>200

[a] Condição reacional: substrato (*RS*)-**84a** (0,1 mmol; 24,7 mg), CAL-B (20 mg), acetato de etila (0,4 mmol; 39 μL), solvente (2 mL).
[b] Determinado por CLAE com fase estacionária quiral;
[c] determinado por CG com fase estacionária quiral;
[d] Conversão: $c = ee_S/(ee_S + ee_P)$;
[e] Enantiosseletividade: $E = \ln[ee_P(1-ee_S)]/(ee_P+ee_S) / \ln[ee_P(1+ee_S)]/(ee_P+ee_S)$.

Como já era esperado, das três lipases avaliadas, a lipase de *C. antarctica* (CALB) foi a que apresentou o melhor resultado, levando a formação da amida (*R*)-**86a** com 20% de conversão quando a RCE foi realizada em hexano, e 16% de conversão quando realizada em tolueno. Embora a conversão nesta primeira avaliação fosse baixa, a amida (*R*)-**86a** foi obtida um excelente excesso enantiomérico (ee >99%) em ambos os casos (Tabela 4.1, linhas 1 e 2).

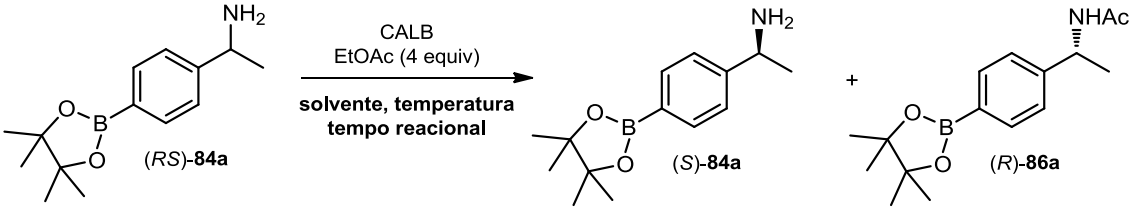
Mesmo com as baixas conversões (*c* ≤7%) obtidas com o emprego das lipases de *P. cepacia* (Tabela 4.1, linhas 3 a 6), os produtos acetilados também foram obtidos com excelente enantiosseletividade (*ee* >99%, *E* >200).

Com base nos resultados apresentados na Tabela 4.1 para o substrato (*RS*)-**84a**, e com o objetivo de aumentar a conversão da RCE foram realizados diferentes experimentos, na qual foi avaliada a influência da temperatura, do tempo reacional e do solvente empregado na reação.

Como pode-se observar na Tabela 4.2, entre as linhas 1 e 8, o aumento da temperatura reacional para 40 e 50 ºC bem como o aumento do tempo reacional de 24 horas para 48 horas levaram a um pequeno acréscimo na conversão da reação. As conversões observadas nas reações realizadas em hexano foram similares as conversões em tolueno. Em todos os casos a amida foi obtida com excessos enantioméricos >99%, desta forma, embora a conversão desejada de 50% não fora alcançada nestas condições reacionais, a RCE mediada pela lipase CALB apresenta grande enantiosseletividade (*E* >200).

Quando acetato de etila foi utilizado como solvente da reação (linhas 9 a 13) melhores valores de conversão foram obtidos. O melhor resultado obtido foi com a reação realizada a 50 ºC em um tempo reacional de 48 horas. Neste caso, a amida foi obtida com 45% de conversão e com ee >99%, e a amina remanescente apresentou um ee de 80% (linha 12).

Tabela 4.2. Influência da temperatura, tempo reacional e solvente na RCE da amina (*RS*)-**84a** mediada pela lipase CALB.



#	solvente	temperatura (ºC)	Tempo (h)	ee (%)		*c*. (%)[d]	*E*[e]
				(*S*)-**84a**[b]	(*R*)-**86a**[c]		
1	hexano	40	24	39	>99	28	>200
2	hexano	40	48	43	>99	30	>200
3	hexano	50	24	40	>99	29	>200
4	hexano	50	48	45	>99	31	>200
5	tolueno	40	24	38	>99	28	>200
6	tolueno	40	48	45	>99	31	>200
7	tolueno	50	24	43	>99	30	>200
8	tolueno	50	48	46	>99	32	>200
9	acetato de etila	40	24	71	>99	42	>200
10	acetato de etila	40	48	78	>99	44	>200
11	acetato de etila	50	24	78	>99	44	>200
12	acetato de etila	50	48	80	>99	45	>200
13	acetato de etila	60	24	77	>99	44	>200
14	Et_2O	40	24	19	>99	16	>200
15	TBME	40	24	15	>99	13	>200
16	1,4-dioxano	40	24	3	>99	3	>200
17	THF	40	24	2	>99	2	>200

[a] Condição reacional: substrato (*RS*)-**84a** (0,1 mmol; 24,7 mg), CAL-B (20 mg), acetato de etila (0,4 mmol; 39 μL), solvente (2 mL).
[b] Determinado por CLAE com fase estacionária quiral;
[c] Determinado por CG com fase estacionária quiral;
[d] Conversão: $c = ee_S/(ee_S + ee_P)$;
[e] Enantiosseletividade: $E = \ln[ee_P(1-ee_S)]/(ee_P+ee_S) / \ln[ee_P(1+ee_S)]/(ee_P+ee_S)$.

Na Figura 4.2, pode-se visualizar os cromatogramas obtidos por análise em CLAE quiral referente ao racemato (*RS*)-**84a**, e a amina enantiomericamente enriquecida (*S*)-**84a**, com 80% de excesso enantiomérico após a RCE utilizando as condições descritas na linha 12 da Tabela 4.2. Na Figura 4.3 são mostrados os cromatogramas obtidos por análise em CG da amida (*R*)-**86a** (ee >99%).

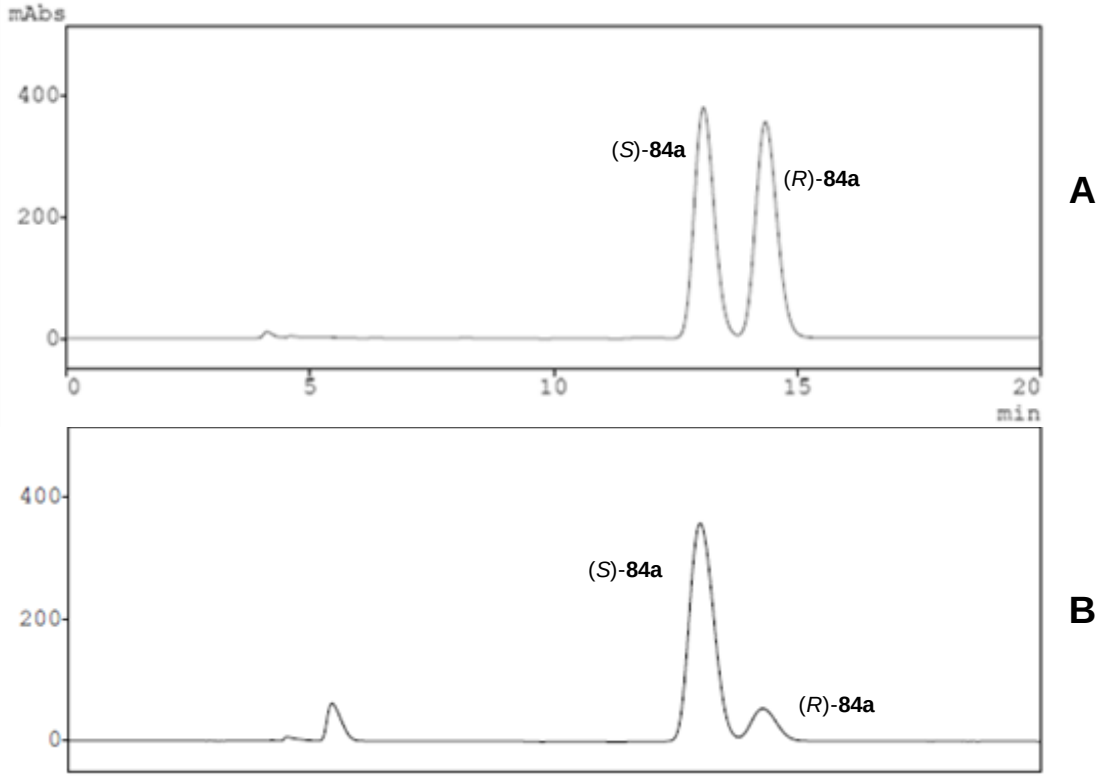


Figura 4.2. Cromatograma obtido por análise de CLAE da amina (*RS*)-**84a** (cromatograma **A**), e o cromatograma obtido da amida enantio-enriquecida (*S*)-**84a** após a reação de RCE (cromatograma **B**).

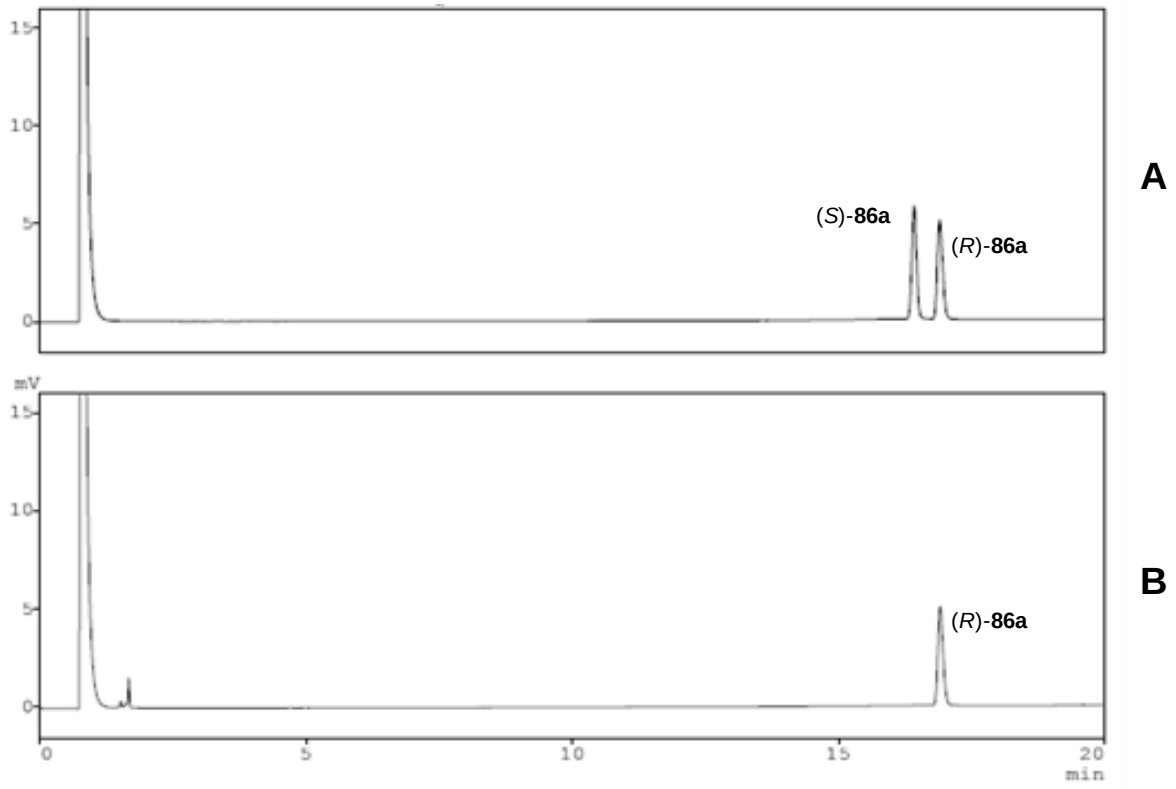
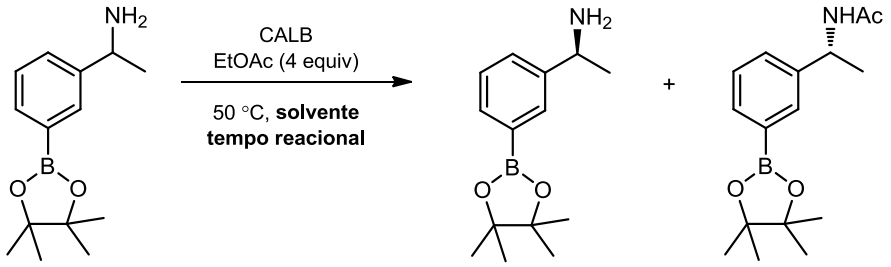


Figura 4.3. Cromatograma obtido por análise de CG da amina (*RS*)-**86a** (cromatograma **A**), e o cromatograma obtido da amida enantiopura (*R*)-**86a** após a reação de RCE (cromatograma **B**).

Em alguns estudos reportados na literatura, o uso de solventes mais polares em reações de RCE de aminas levam a um significante efeito na atividade das lipases, resultando a um aumento dos valores de conversão.[146] Assim, solventes mais polares como éter dietílico (Et_2O), éter *terc*-butil metílico (TBME), 1,4-dioxano e tetrahidrofurado (THF) foram avaliados em uma temperatura reacional de 40 ºC durante 24 horas. Porém, como pode-se observar na Tabela 4.2 (linhas 14 a 17) as conversões foram consideravelmente baixas quando comparadas com as reações realizadas em solventes apolares, como hexano e tolueno (linhas 1 e 5).

As melhores condições reacionais encontradas foram aplicadas a amina (*RS*)-**84b** como mostrado na Tabela 4.3 mantendo a temperatura reacional em 50 ºC.

Tabela 4.3. Influência do tempo reacional e solvente na RCE da amina (*RS*)-**84b** mediada pela lipase CALB.



(*RS*)-**84b** (*S*)-**84b** (*R*)-**86b**

#	solvente	Tempo (h)	ee (%)		*c*. (%)[d]	*E*[e]
			(*S*)-**84b**[b]	(*R*)-**86b**[c]		
1	hexano	24	33	>99	25	>200
2	hexano	48	40	>99	29	>200
3	tolueno	24	35	>99	26	>200
4	tolueno	48	39	>99	28	>200
5	acetato de etila	24	64	>99	39	>200
6	acetato de etila	48	71	>99	42	>200

[a] Condição reacional: substrato (*RS*)-**84b** (0,1 mmol; 24,7 mg), CAL-B (20 mg), acetato de etila (0,4 mmol; 39 μL), solvente (2 mL).
[b] Determinado por CLAE com fase estacionária quiral;
[c] Determinado por CG com fase estacionária quiral;
[d] Conversão: $c = ee_S/(ee_S + ee_P)$;
[e] Enantiosseletividade: $E = \ln[ee_P(1-ee_S)]/(ee_P+ee_S) / \ln[ee_P(1+ee_S)]/(ee_P+ee_S)$.

Comparando os resultados obtidos na RCE da amina (*RS*)-**84b** pode-se notar que os valores de conversão foram ligeiramente inferiores aos obtidos na RCE da amina (*RS*)-**84a**. O melhor resultado foi também obtido quando a reação de RCE foi realizada em acetato de etila, levando a amida (*R*)-**86b** com 42% de conversão e excelente excesso enantiomérico (ee >99%, Tabela 4.3, linha 6).

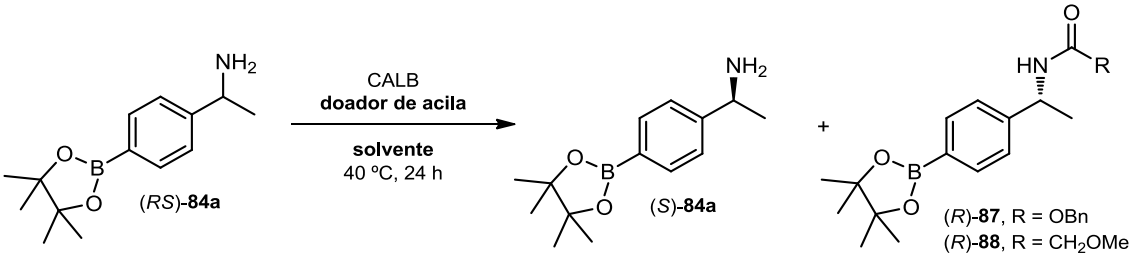
Uma desvantagem do uso de acetato de etila como reagente doador de acila é a formação de uma amida termodinamicamente estável, que para ser hidrolisada a correspondente amina necessita de condições reacionais mais drásticas. Por isso, existe a necessidade de se empregar doadores de grupamento acila que levem a amidas ou carbamatos que sejam facilmente hidrolisados.

Desta forma, foi avaliado o emprego de outros reagentes doadores de acila, como o 2-metoxiacetato de etila e o carbonato de benzila, na RCE da amina contendo boro (*RS*)-**84a**. O uso do carbonato de benzila leva a formação de carbamatos que podem ser facilmente convertidos a aminas após uma reação de hidrogenólise catalisada por Pd/C. Já o 2-metoxiacetato de etila tem sido amplamente utilizado devido a sua maior reatividade quando comparado ao acetato de etila na formação do intermediário acil-enzima. Essa maior reatividade é atribuída ao efeito indutivo causado pelo grupo metoxila a carbonila.[155-157] Devido a estas características, aliado a facilidade de hidrólise da amida obtida, este composto tem sido utilizado em processos industriais de resolução de aminas.

Como pode ser observado na Tabela 4.4 (linhas 1 a 6), a acilação da amina (*RS*)-**84a** com dibenzil carbonato leva a formação da amida (*R*)-**87** com alta enantiosseletividade (ee >99%), entretanto foi observada uma baixa conversão após 24 horas. A máxima conversão obtida foi de 17%, quando a reação foi realizada em hexano a 50 ºC (Tabela 4.4, linha 3). Um aumento de 10 ºC na temperatura reacional não influenciou na conversão da reação.

Quando foi empregado o 2-metoxiacetato de etila como reagente doador de acila (Tabela 4.4, linhas 7 a 13), também foi observado a alta enantiosseletividade da reação, uma vez que a amida (*R*)-**88** foi obtida com ee >99% em todas as condições reacionais avaliadas. Porém, as conversões foram um pouco inferiores àquelas obtidas quando empregado acetato de etila nas mesmas condições reacionais. A máxima conversão obtida foi quando a reação foi realizada em tolueno a 60 ºC (linha 12) em que a amida (*R*)-**88** foi obtida com 30% de conversão. Interessantemente, o aumento do tempo reacional para 48 horas (linha 13), não levou a um aumentou da conversão.

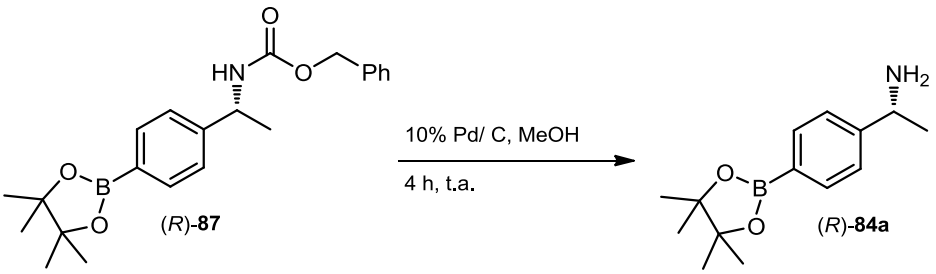
Tabela 4.4. Influência do doador de acila na RCE da amina (*RS*)-**84a** mediada pela lipase CALB.



#	doador de acila	solvente	temperatura (ºC)	ee (%)		*c*. (%)[d]	*E*[e]
				(*S*)-**84a**[b]	(*R*)-**87** ou (*R*)-**88**[c]		
1	carbonato de dibenzila	hexano	40	12	>99	11	>200
2		tolueno	40	8	>99	7	>200
3		hexano	50	21	>99	17	>200
4		tolueno	50	12	>99	11	>200
5		hexano	60	19	>99	16	>200
6		tolueno	60	21	>99	17	>200
7	2-metoxiacetato de etila	hexano	40	39	>99	28	>200
8		tolueno	40	36	>99	26	>200
9		hexano	50	44	>99	31	>200
10		tolueno	50	42	>99	30	>200
11		hexano	60	53	>99	35	>200
12		tolueno	60	42	>99	30	>200
13[f]		tolueno	60	44	>99	31	>200

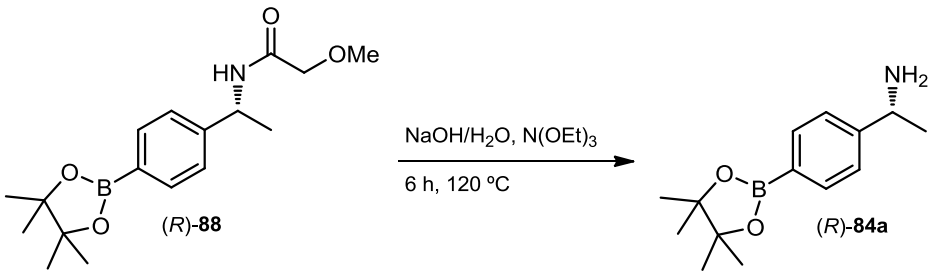
[a] Condição reacional: substrato (*RS*)-**84a** (0,1 mmol; 24,7 mg), CAL-B (20 mg), doador de acila (0,4 mmol), solvente (2 mL).
[b] Determinado por CLAE com fase estacionária quiral;
[c] Determinado por CG com fase estacionária quiral;
[d] Conversão: $c = ee_S/(ee_S + ee_P)$;
[e] Enantiosseletividade: $E = \ln[ee_P(1-ee_S)]/(ee_P+ee_S) / \ln[ee_P(1+ee_S)]/(ee_P+ee_S)$.
[f] 48 horas de reação.

Para medir o excesso dos produtos acilados (*R*)-**87** e (*R*)-**88**, estes foram convertidos as respectivas aminas (*R*)-**84a**. Para a amida (*R*)-**87** foi realizada uma reação de hidrogenólise utilizando Pd/C em metanol (Esquema 4.10).



Esquema 4.10. Reação de hidrogenólise do carbamato (*R*)-**87**.

Já para a amida (*R*)-**88** foi realizada uma reação de hidrólise em meio alcalino como mostrado no Esquema 4.11.



Esquema 4.11. Reação de hidrólise da amida (*R*)-**88**.

Após estas reações, as aminas resultantes foram analisadas por CLAE, no qual foi observado que as aminas (*R*)-**84a** foram obtidas com excesso enantiomérico >99%. Os rendimentos destas reações não foram quantificados.

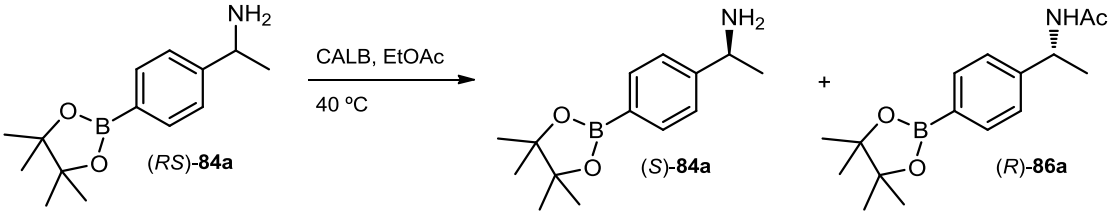
Infelizmente, como não foi possível aumentar a conversão da reação empregando os doadores de acila dibenzilcarbonato ou 2-metoxiacetato de etila, avaliou-se a influência da quantidade de CALB na conversão da reação, bem como tempos reacionais mais longos.

Nos experimentos anteriores a quantidade de CALB empregada foi de 20 mg para 0,1 mmol de substrato. Assim, foram realizados experimentos de 24, 48, 72 e 96 horas de reação empregando 20 e 40 mg da CALB utilizando acetato de etila tanto como doador de acila quanto como solvente.

Como pode-se observar na Tabela 4.5, quando foram empregados 20 mg da CALB um pequeno acréscimo na conversão foi observado até 72 horas de reação, em que aparentemente a conversão atinge seu valor máximo (Tabela 4.5, linhas 1 a 4). Já quando foram empregados 40 mg da CALB, não foi observado um aumento da conversão, em vez disto, foi observado um pequeno decréscimo na conversão e do ee da amina (*S*)-**84a** (linhas 6 a 8).

Esta observação pode estar relacionada a uma hidrólise da amida formada (*R*)-**86a**, pela água residual da CALB, e este efeito foi pronunciado quando empregou-se uma quantidade maior da enzima.

Tabela 4.5. Influência da quantidade de CALB e do tempo reacional na RCE da amina (*RS*)-**84a**.[a]



#	CALB (mg)	tempo (h)	ee (%)		*c*. (%)[d]	*E*[e]
			(*S*)-**84a**[b]	(*R*)-**86a**[c]		
1	20	24	71	>99	42	>200
2	20	48	78	>99	44	>200
3	20	72	80	>99	45	>200
4	20	96	77	>99	44	>200
5	40	24	76	>99	43	>200
6	40	48	75	>99	43	>200
7	40	72	74	>99	43	>200
8	40	96	68	>99	40	>200

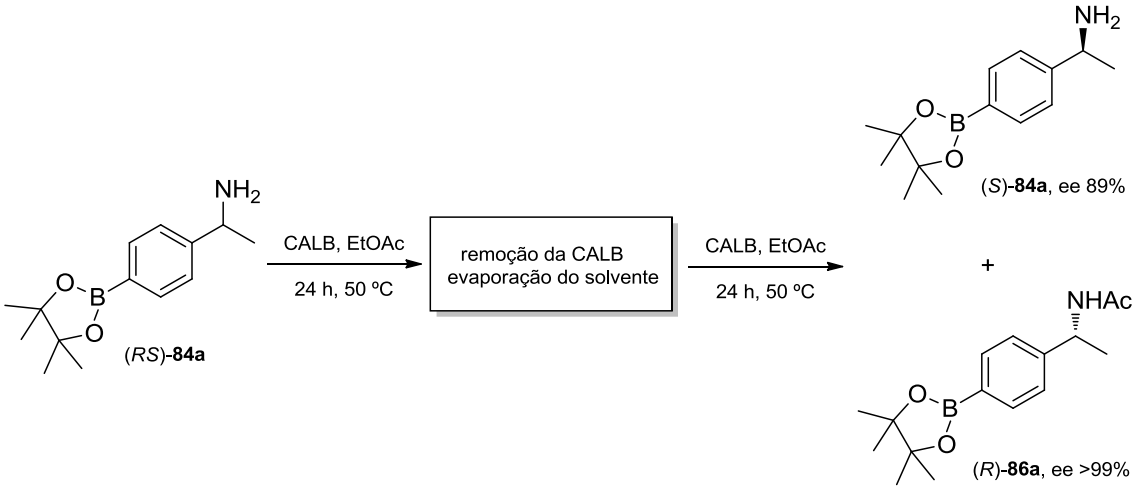
[a] Condição reacional: substrato (*RS*)-**84a** (0,1 mmol; 24,7 mg), CAL-B (20 mg), acetato de etila (2 mL), 40 ºC.
[b] Determinado por CLAE com fase estacionária quiral;
[c] Determinado por CG com fase estacionária quiral;
[d] Conversão: $c = ee_S/(ee_S + ee_P)$;
[e] Enantiosseletividade: $E = \ln[ee_P(1-ee_S)]/(ee_P+ee_S) / \ln[ee_P(1+ee_S)]/(ee_P+ee_S)$.

Estes resultados levam a crer que o produto formado, a amida (*R*)-**86a,** estaria interagindo com o sítio ativo da CALB de uma forma competitiva, e desta forma evitando o aumento da conversão. A possível hidrólise observada quando foram empregados 40 mg de CALB (Tabela 4.5, linha 9) também pode ser explicado pela maior interação da amida (*R*)-**86a** com a enzima.

Alguns trabalhos relatam que subprodutos gerados durante a reação de resolução cinética podem fazer com que esta não se complete, ou seja, o produto não é convertido com 50%. Um destes subprodutos pode ser o etanol produzido após a formação do intermediário acil-enzima, quando é empregado acetato de etila como doador de acila. Assim, uma das formas de solucionar este problema é submeter novamente os componentes da reação incompleta (substrato, produto e enzima) a uma segunda RCE removendo o solvente inicial o qual contem o etanol, substituindo por um novo solvente e uma nova enzima.

Desta forma, para verificar se esta possibilidade poderia estar impedindo a completa RCE da amina (*RS*)-**84a**, foi realizada uma reação de RCE empregando as melhores condições até então encontradas para a RCE da amina (*RS*)-**84a** (Tabela 4.2, linha 12).

Após 24 horas de reação, a CALB foi removida através de filtração e o solvente (acetato de etila) removido sob pressão reduzida. Os excessos enantioméricos do produto acetilado (*R*)-**86a** (ee >99%) e da amina remanescente (S)-**84a** (85% ee) foram medidos, e novamente essa mistura foi submetida a uma segunda RCE, em que foi adicionado tanto CALB e acetato de etila novos. A reação foi mantida nas mesmas condições por mais 24 h. Após este período, observou-se apenas um pequeno acréscimo no excesso enantiomérico da amina (ee 89%) como mostrado no Esquema 4.12.

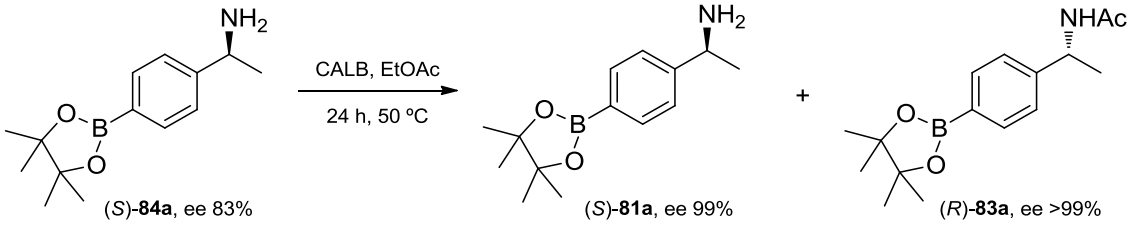


Esquema 4.12. Dupla RCE da amina (*RS*)-**84a**.

Este resultado mostra que o etanol gerado durante a reação não influência na conversão da reação, e deixando mais claro, que o produto formado, a (*R*)-**86a** poderia estar inibindo a atividade da enzima.

Para sustentar esta hipótese, foi submetido a amina (*S*)-**84a** com 80% de excesso enantiomérico a RCE nas melhores condições estabelecidas (Esquema 4.13).

Após 24 horas de reação foi possível obter a amina (S)-**84a** com 99% de excesso enantiomérico. Com este resultado pode-se concluir que o enantiômero-(*S*) não atua como um inibidor.



Esquema 4.13. RCE da amina (*S*)-**84a** com 83% de excesso enantiomérico.

Infelizmente, não foi possível realizar a síntese de outros exemplos de aminas contendo boro para serem empregadas como substratos na reação de RCE, o que seria de grande interesse, uma vez que estas aminas são consideradas promissores blocos de construção em síntese orgânica.

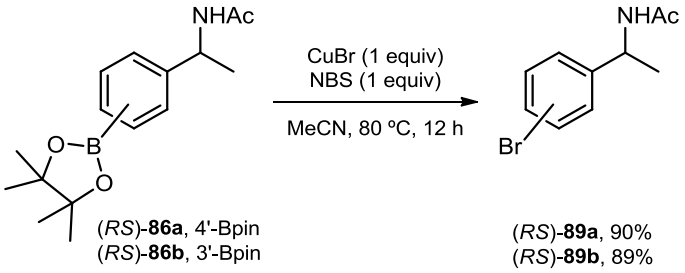
4.2.3. Determinação da configuração absoluta das aminas e amidas obtidas

Para determinar a configuração absoluta das aminas enantio-enriquecidas (*S*)-**84a,b** bem como das amidas enantiopuras (*R*)-**86a,b**, empregou-se a mesma estratégia utilizada na determinação da configuração absoluta dos álcoois contendo boro, transformando um dos compostos obtidos em um composto que possuísse a configuração absoluta já atribuída e dados como rotação específica ou ordem de eluição em CLAE ou CG quiral que pudessem ser comparados.

A possibilidade de realizar uma reação de acoplamento do tipo Suzuki-Miyaura com as aminas (*S*)-**84a,b** ou com as amidas (*R*)-**86a,b** foi descartada, uma vez que os produtos que seriam obtidos, as aminas ou amidas bifenílicas, não foram descritas na literatura na sua forma enantiopura ou enantio-enriquecida.

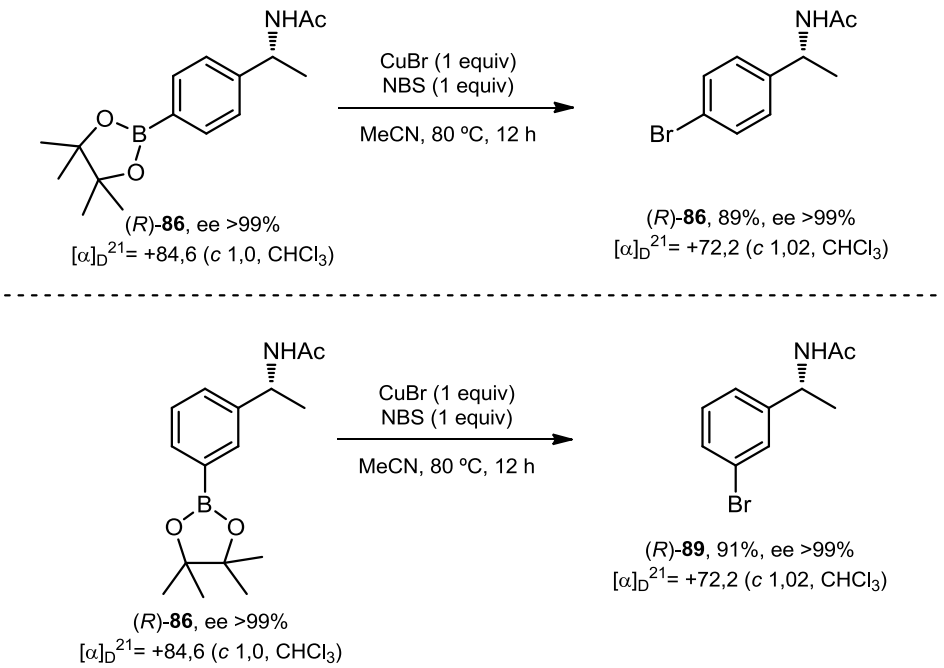
Porém, encontrou-se na literatura a descrição da ordem de eluição dos enantiômeros das amidas 4- e 3-bromofenilacetamidas (**89a,b**)[158]

Desta forma, para realizar a transformação das amidas contendo boro **86a,b** nas respectivas amidas **89a,b** avaliou-se a reação de bromo-desborilação.[159] Nesta reação ocorre a troca do átomo de boro pelo átomo de bromo, catalisada por NBS e CuBr como mostrado no Esquema 4.14. Inicialmente realizou-se a reação de bromo-desborilação com as amidas racêmicas (*RS*)-**86a,b**, e os produtos 4- e 3-bromofenilacetamidas [(*RS*)-**89a,b**] foram obtidos com bons rendimentos (Esquema 4.14).



Esquema 4.14. Transformação das amidas contendo boro (*RS*)-**86a,b** nas amidas (*RS*)-**896a,b** através da reação de bromo-desborilação.

Posteriormente, foi realizada a mesma reação empregando as amidas enantiopuras (*R*)-**86a,b** (ee >99%) como mostrado no Esquema 4.15.



Esquema 4.15. Transformação das amidas contendo boro (*R*)-**86a,b** (ee >99%) nas amidas (*R*)-**89a,b** através da reação de bromo-desborilação.

As bromofenilacetamidas obtidas foram analisadas em CLAE utilizando a mesma fase estacionária quiral reportada no trabalho utilizado como referência, e assim, atribuiu-se a configuração absoluta pela comparação pela ordem de eluição e tempos de retenção observados para as amidas (*R*)-**89a,b** com os dados já descritos.

5. Biorredução de álcoois contendo boro por enzimas álcool desidrogenases

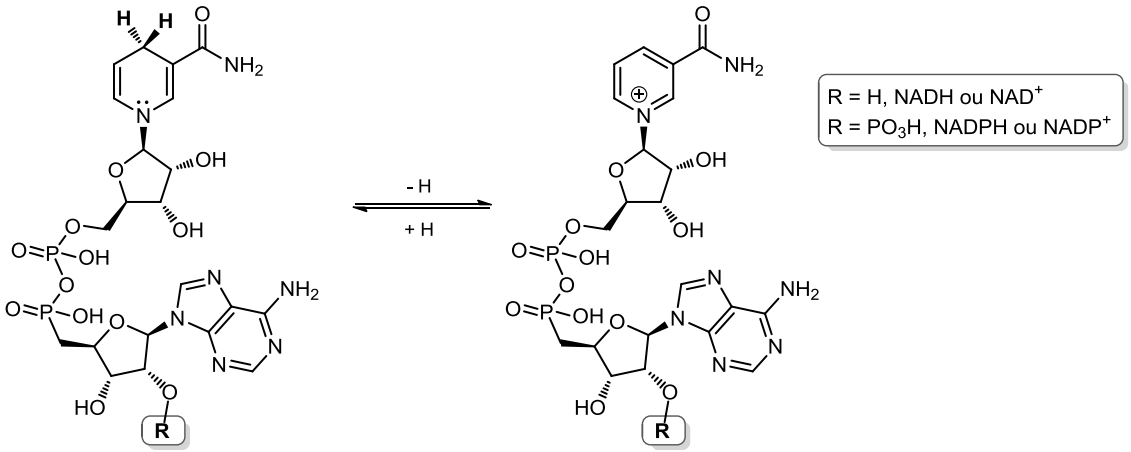
5.1. Introdução

A redução enantiosseletiva de cetonas pró-quirais é um processo de grande importância em síntese orgânica para a obtenção de álcoois secundários enantiomericamente puros, uma vez que esses fazem parte da estrutura de inúmeros compostos com atividade biológica.

Aliado aos métodos que empregam organocatalisadores como reagentes redutores,[160-161] o uso de métodos enzimáticos para a biorredução de compostos carbonílicos vêm sendo bastante explorados, mostrando que este pode ser um método bastante atrativo para a preparação de álcoois de maneira enantiosseletiva. Além disto, dependendo do substrato empregado, o processo de biorredução pode ser realizado com elevada quimio- e regiosseletividade.[162-165]

As enzimas que realizam a biorredução de compostos carbonílicos aos respectivos álcoois são as enzimas álcool desidrogenases (ADHs), que pertencem a classe das óxido-redutases (Tabela 1.2, Ítem 1.2).

As ADHs são dependentes de cofatores, ou seja, pequenas moléculas orgânicas necessárias para que a reação de óxido-redução ocorra. As ADHs são dependentes de dois tipos de cofatores: a) dinucleotídio de dicotinamida e adenina na sua forma reduzida (NADH) ou oxidada (NAD^+); b) fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina na sua forma reduzida (NADPH) ou oxidada ($NADP^+$).[165]



Esquema 5.1. Esquema representando o equilíbrio de oxi-redução do NADH ao NAD^+ ou NADPH ao $NADP^+$.

O papel das enzimas ADHs é proporcionar uma interação do substrato com o cofator de uma maneira que seja favorável termodinamicamente. De forma geral, no mecanismo de biorredução de compostos carbonílicos pode haver quatro caminhos estereoquímicos para a transferência do hidreto do cofator (NADH ou NADPH) para o substrato (Figura 5.1). O hidreto reagirá com a face-*re* ou com a face-*si* do composto carbonílico dependendo da orientação deste no sítio ativo da enzima, levando a formação do álcool de configuração-(*S*) ou –(*R*). Por outro lado, tanto o hidreto pro-(*R*) quanto o hidreto pro-(*S*) do cofator pode ser transferido dependendo da orientação deste na cavidade da enzima. Como mostrado na Figura 5.1, algumas enzimas podem promover a transferência do hidreto pela face-*re,* obedecendo à regra de Prelog[166] com o ataque pela face frontal. Quando a transferência ocorre pela face-*si* diz-se que o ataque do hidreto é anti-Prelog.

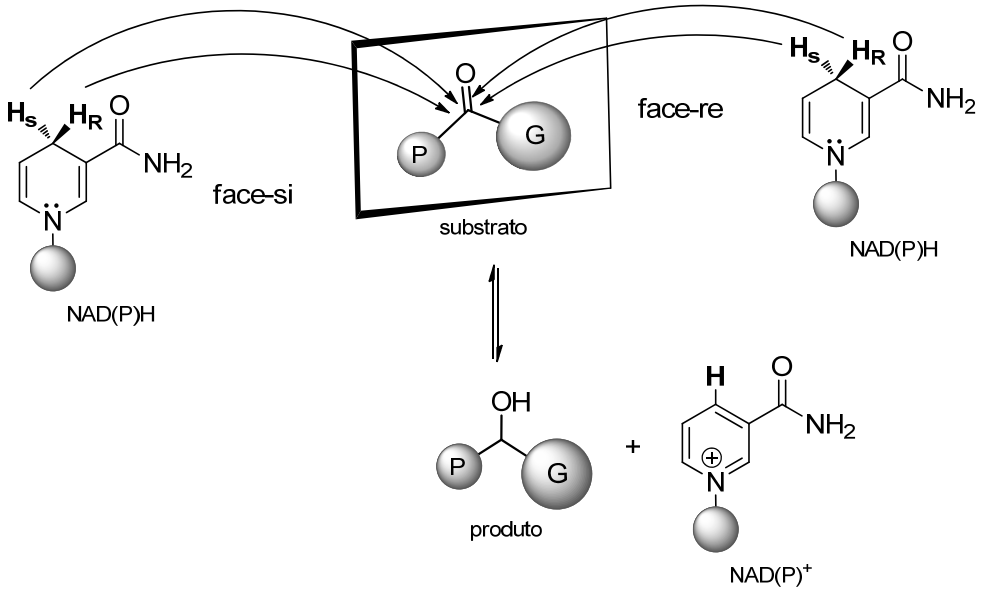
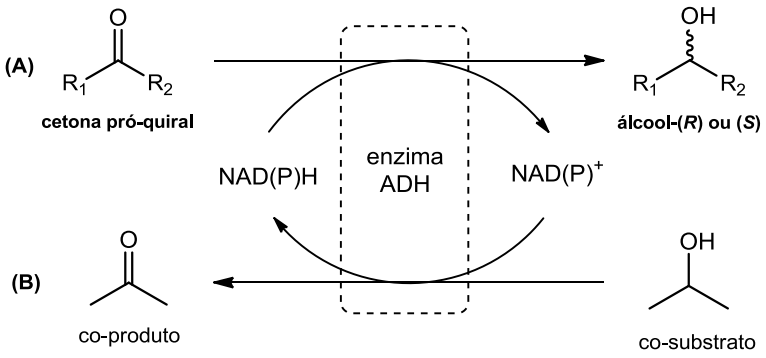


Figura 5.1. Mecanismo de transferência de hidreto do cofator (NADH ou NADPH) a um composto carbonílico pró-quiral substituído por um grupo pouco volumoso (esfera P) e um bastante volumoso (esfera G).

As reações de biorredução podem ser realizadas de duas formas: a) Através das enzimas ADHs presentes em células intactas de fungos ou bactérias. Desta forma, faz-se o crescimento do microrganismo desejado e após, uma determinada quantidade de massa celular é empregada no meio reacional contendo o composto carbonílico que se deseja reduzir. b) Uma segunda forma é o emprego de enzimas ADHs isoladas. Porem, neste caso é necessário que se adicione no meio reacional a mesma quantidade estequiométrica do NAD(P)H para que a biorredução ocorra com uma conversão teórica de 100%.

Devido ao alto valor destes cofatores, esses processos têm sido realizados com sistemas de reciclagem destes cofatores no próprio meio reacional.

Existem diferentes processo para a regeneração do cofator,[165] entre eles, o mais utilizado é o de co-substrato acoplado, no qual a enzima simultaneamente transforma o substrato principal no produto de interesse e transforma um segundo substrato em um produto secundário, consequentemente regenerando o cofator na forma reduzida como mostrado no Esquema 5.2.



Esquema 5.2. (A) Redução da cetona para levar ao seu respectivo álcool (*R* ou *S*) catalisada por álcool desidrogenase. (B) Reação do co-substrato 2-propanol à acetona para regenerar o cofator reduzido.

As enzimas ADH estão presentes em todos os organismos, pois participam de um grande número de processos celulares, como por exemplo, metabolismo de açucares e lipídios. Assim, muitas reações de biorredução descritas na literatura empregam células inteiras de microorganismos, ou até mesmo plantas.

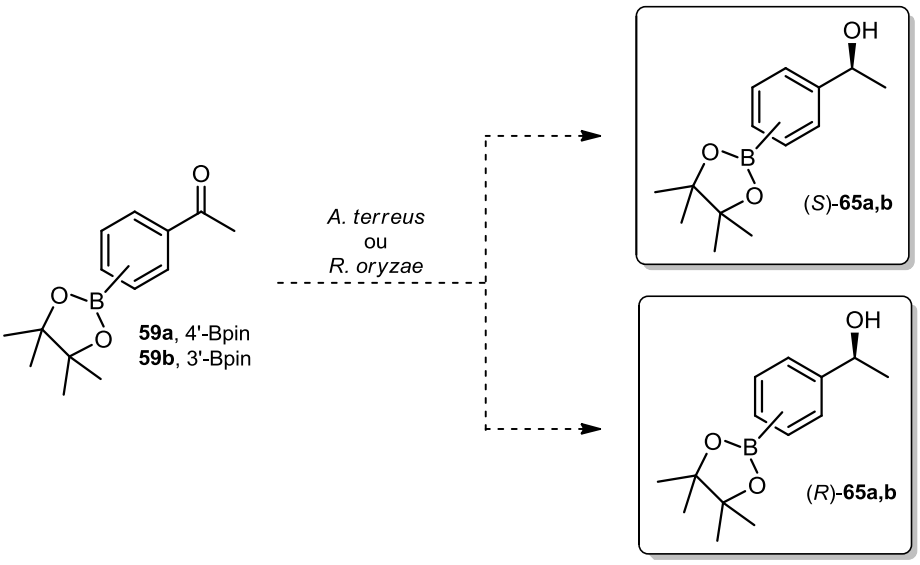
Algumas ADHs são disponíveis comercialmente em sua forma pura para uso sintético, suas fontes incluem leveduras como *Saccharomyces cerevisiae*, fígado de cavalo, e bactérias como *Thermoanerobium brockii e Lactobacillus kefir.* Entretanto, devido à importância da transformação que estas enzimas proporcionam, constantemente há a busca por novos organismos que possam conter enzimas ADH que realizem esta transformação com alta eficiência.

5.2. Apresentação e discussão dos resultados

*5.2.1. Biorredução de cetonas contendo boro mediada por células dos fungos Aspergillus terreus e R*hizopus *oryzae*

O nosso grupo de pesquisa havia explorado as reações de biorredução de cetonas com células dos fungos *Aspergillus terreus* (SSP 1498) e *Rhizopus oryzae* (CCT 4964). Neste trabalho, foi observado que o fungo *R. oryzae* possui enzimas álcool desidrogenases que levaram ao enantiômero oposto àquele produzido pelo fungo *A. terreus*.[167]

Desta forma, o primeiro estudo realizado neste projeto de doutorado foi a biorredução das cetonas contendo boro **59a,b** utilizando os fungos *R. oryzae e A. terreus* como fonte de enzimas álcool desidrogenases (ADHs) e do cofator NAD(P)H. (Esquema 5.3).



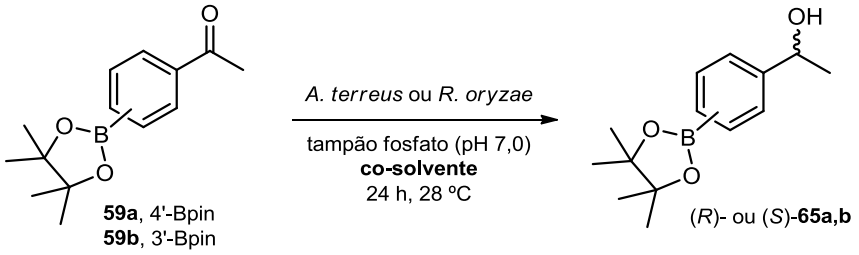
Esquema 5.3. Proposta de síntese dos álcoois (*R*)- ou (*S*)-**65a,b** através da reação de biorredução das cetonas **59a,b** utilizando os fungos *A. terreus* e *R. oryzae*.

Uma vez que as cetonas **59a,b** não se mostraram totalmente solúveis em meio aquoso, avaliou-se também o uso de co-solventes nas reações de biorredução, visando assim melhorar a solubilidade dos substratos no meio reacional.

Nos estudos anteriores realizados no laboratório foi observado que a concentração ideal de co-solvente nas reações de biorredução era de 20% (v/v), e quando concentrações superiores de co-solvente eram empregadas, havia um decréscimo na conversão das cetonas aos respectivos álcoois.[167]

A Tabela 5.1 mostra os resultados obtidos com a biorredução das cetonas **59a,b** em três sistemas de solvente em período de 24 horas.

Tabela 5.1. Biorredução das cetonas contendo boro **59a,b** mediada por ADHs presente nos fungos *A. terreus* e *R. oryzae*.[a]



#	fungo	substrato	co-solvente	*c*. (%)[b]	ee (%)[c]
1	*A. terreus*	**59a**	-	15	66 (*S*)
2	*A. terreus*	**59a**	glicerol	28	76 (*S*)
3	*A. terreus*	**59a**	Hexano	12	79 (*S*)
4	*A. terreus*	**59b**	-	5	-
5	*A. terreus*	**59b**	glicerol	10	80 (*S*)
6	*A. terreus*	**59b**	Hexano	0	-
7	*R. oryzae*	**59a**	-	40	>99 (*S*)
8	*R. oryzae*	**59a**	glicerol	43	>99 (*S*)
9	*R. oryzae*	**59a**	hexano	0	-
10	*R. oryzae*	**59b**	-	0	-
11	*R. oryzae*	**59b**	glicerol	0	-
12	*R. oryzae*	**59b**	hexano	0	-

[a] Condições reacionais: substrato (0,1 mmol), solvente [60 mL de tampão fosfato (pH 7,0) ou tampão fosfato + co-solvente (20% v/v)], células de fungo (3g);
[b] Determinado por CLAE;
[c] Determinado por CLAE com fase estacionária quiral;

Nestes estudos foi observado que tanto o *A. terreus* quanto o *R. oryzae* proporcionaram a biorredução da cetona **59a** (Tabela 5.1, linhas 1-3 e 7-9). Entretanto o fungo *R. oryzae* foi o que proporcionou as melhores conversões e excelentes excessos enantioméricos, não havendo diferença nos resultados quando a reação ocorreu em apenas solução tampão ou quando realizada no sistema heterogênio hexano/ solução tampão (linhas 7 e 8). Ao contrário do que se esperava, ambos os fungos levaram ao álcool (*S*)-**65a** com a mesma configuração absoluta.

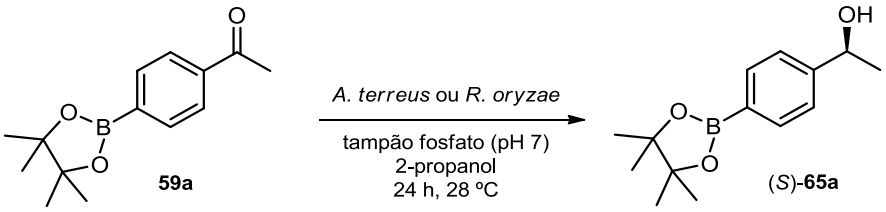
Nestes estudos foi possível também notar influência da posição do grupamento organoborônico no anel aromático. O álcool **65b** foi obtido com uma baixa conversão quando empregado o fungo *A. terreus*, com 5% de conversão quando a reação foi realizada em solução tampão, e 10% quando utilizado glicerol como co-solvente (linhas 4 e 5).

Entretanto, foi observado um excesso enantiomérico similar aos observados para o álcool **65a** (linha 5).

Já quando foi empregado o fungo *R. oryzae* na biorredução da cetona **59b** não foi observado a formação do álcool desejado **65b** (linhas 10-12)

Com o objetivo de melhorar a conversão da biorredução da cetona **59a**, investigou-se o uso do 2-propanol, o qual seria utilizado tanto como regenerador de cofator, como co-solvente na reação (Tabela 5.2).

Tabela 5.2. Efeito do 2-propanol na biorreducão da cetona **59a** mediada por ADHs presente nos fungos *A. terreus* e *R. oryzae*.[a]



#	fungo	substrato	co-solvente	*c*. (%)[b]	*ee* (%)[c]
1	*A. terreus*	**59a**	-	48	56
2	*A. terreus*	**59a**	glicerol	40	>99
3	*R. oryzae*	**59a**	-	69	>99
4	*R. oryzae*	**59a**	glicerol	29	>99
5	*A. terreus*	**59b**	-	0	-
6	*A. terreus*	**59b**	glicerol	0	-
7	*R. oryzae*	**59b**	-	0	-
8	*R. oryzae*	**59b**	glicerol	0	-

[a] Condições reacionais: substrato **59a** ou **59b** (0,1 mmol, 24, 6 mg), 2-propanol (2 mL), solvente [solução tampão fosfato (50 mM, pH 7,0, 60 mL) ou solução tampão fosfato (50 mM, pH 7,0 48 mL) e co-solvente (12 mL)], células de fungo (3g);
[b] Determinado por CLAE;
[c] Determinado por CLAE com fase estacionária quiral;

Surpreendentemente, foram obtidos excelentes excessos enantioméricos para os álcoois quirais nas reações em que glicerol foi utilizado como co-solvente. No entanto, melhores conversões foram obtidas quando a reação foi realizada somente em tampão fosfato (Tabela 5.2, linhas 1 e 3).

Como pode-se observar na Tabela 5.2 (linhas 5 a 8), não foi possível observar a formação do álcool **62b** quando foi empregado o 2-propanol.

Embora tenha sido observada uma excelente enantiosseletividade nas reações de biorredução, em que foi possível observar principalmente a formação do álcool (*S*)-**65a** em excelente enantiosseletividade (*ee* >99%), os rendimentos após a extração foram inferiores a 7%.

Este baixo rendimento pode ser explicado pela grande quantidade de massa celular presente na reação. Uma possível transesterificação do éster pinacólico com moléculas poli-hidroxiladas presentes na massa celular, e assim poderia reter os compostos.

5.2.2. Biorredução de cetonas contendo boro mediada por enzimas isoladas de Lactobacillus kefir e Thermoanerobium brockii

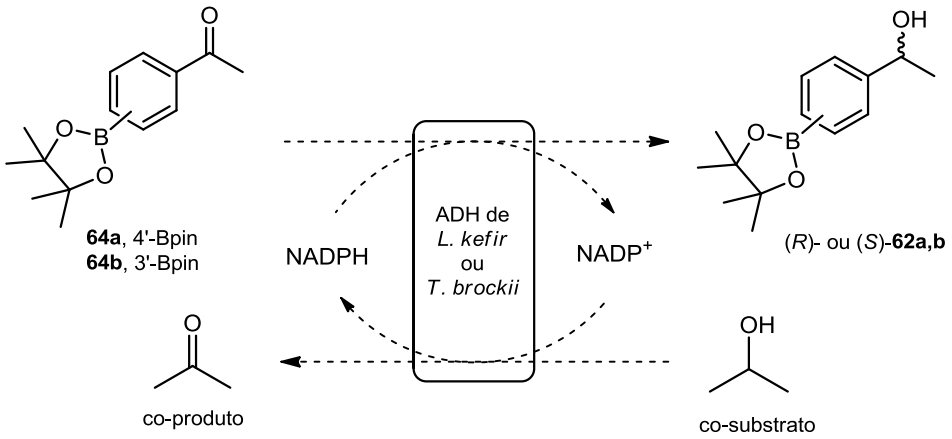
Embora tenha sido possível observar a biorredução das cetonas **59a,b** pelos fungos *A. terreus* e *R. oryzae*, com excelente enantiosseletividade em alguns casos, o baixo rendimento obtido para os produtos torna esta metodologia inviável como uma forma de síntese enantiosseletiva dos compostos **65a,b**.

Desta forma, para evitar o uso de inteiras e assim, realizar a reação de biorredução em meio reacional mais limpo, decidiu-se estudar a reação de biorredução empregando enzimas álcool desidrogenases e cofatores.

Como as enzimas ADHs dos microorganismos previamente estudados não são disponíveis comercialmente, adquiriu-se duas enzimas ADHs que disponíveis comercialmente. As enzimas selecionadas foram as ADHs de *Lactobacillus kefir*[168] e *Thermoanerobium brockii* (TBADH), ambas dependentes do cofator NADPH.

Estas ADHs são bastante estereosseletivas para vasta variedade de substratos, englobando cetonas cíclicas, aromáticas e alifáticas. Além disso, são termoestáveis, suportando temperaturas de até 85ºC como no caso da ADH de *T. brockii*.

Devido à baixa solubilidade dos substratos no meio aquoso tamponado, nestes estudos empregou-se o 2-propanol como co-solvente. Adicionalmente, como já mencionado, o 2-propanol atuaria como co-substrato regenerando o cofator, e assim aumentando as conversões das reações de biorredução.



Esquema 5.4. Proposta de síntese dos álcoois **65a,b** através da biorredução enantiosseletiva das cetonas **59a,b** mediada pelas ADHs dos microorganismos *L. kefir* e de *T. brockii* com regeneração do cofator NADPH.

Com o objetivo de analisar quantitativamente a conversão da reação de biorredução, inicialmente, foram construídas curvas de calibração para as cetonas **59a,b** e para os álcoois (*RS*)-**65a,b**, utilizando como método de análise a CLAE. Para a construção destas curvas foram analisadas amostras contendo uma mistura dos compostos **59a** e (*RS*)-**65a** ou **59b** e (*RS*)-**65b** em uma mesma proporção molar. Para a construção da curva de calibração foram injetados 10 µL de diferentes concentrações destas misturas (10, 7, 5 e 2 mM) em uma mistura de *n*-hexano e *i*-PrOH em uma proporção de 9:1. Foram construídas curvas de calibração com base na área do pico obtida de cada amostra analisada. As curvas obtidas são mostradas nas Figuras 5.2 e 5.3.

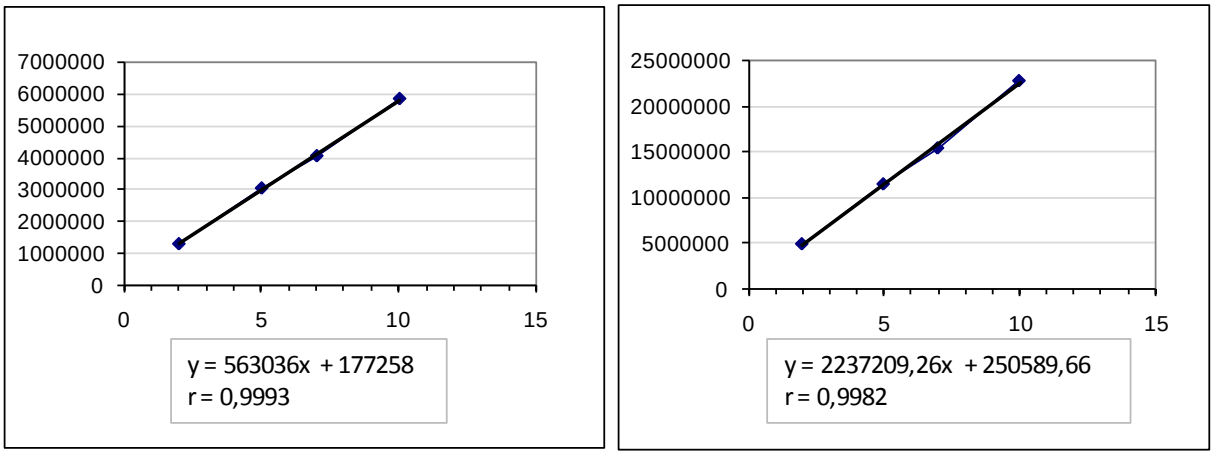


Figura 5.2. Curvas de calibração (absorbância versus concentração) obtidas nas análises da cetona **59a** (gráfico **A**) e do álcool (*RS*)-**65a** (gráfico **B**).

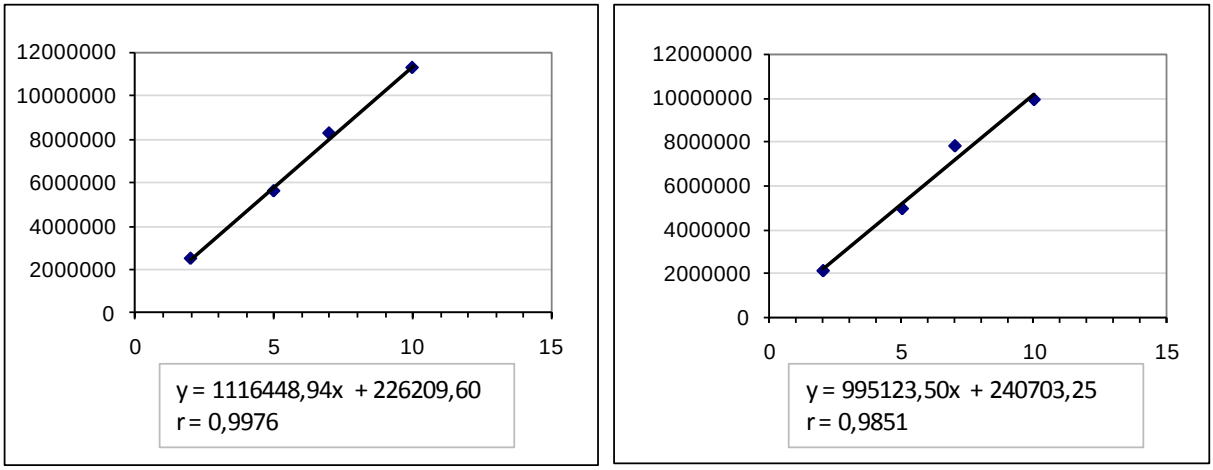


Figura 5.3. Curvas de calibração (absorbância versus concentração) obtidas nas análises da cetona **59b** (gráfico **A**) e do álcool (*RS*)-**65b** (gráfico **B**).

Para os estudos da reação de biorredução utilizando ADH de *L. kefir* utilizaram-se os compostos **59a,b** (0,05 mmol; 12,4 mg) em solução tampão fosfato com pH 7,1. Como a ADH de *L. kefir* é dependente de íons Mg^{2+}, adicionou-se juntamente com a solução tampão

o $MgCl_2$ (1 mM). Adicionou-se também 20% em volume de solvente orgânico (*i*-PrOH), o cofator (NADPH, 0,01mmol) e 0,01 mmol (8,3 mg) da álcool desidrogenase de *L. kefir*.

Após 24 horas de reação, foi realizado o procedimento de extração, no qual foi adicionado éter etílico, e após a separação das fases por centrifugação foi retirada uma alíquota que foi analisada por CLAE utilizando os compostos sintetizados anteriormente, **59a** e (*RS*)-**65a**, como padrão analítico.

Como pode-se observar na Figura 5.4 (cromatograma B) a ADH de *L. kefir* levou a formação do álcool **65a** em excelente enantiosseletividade, e com excesso enantiomérico >99%.

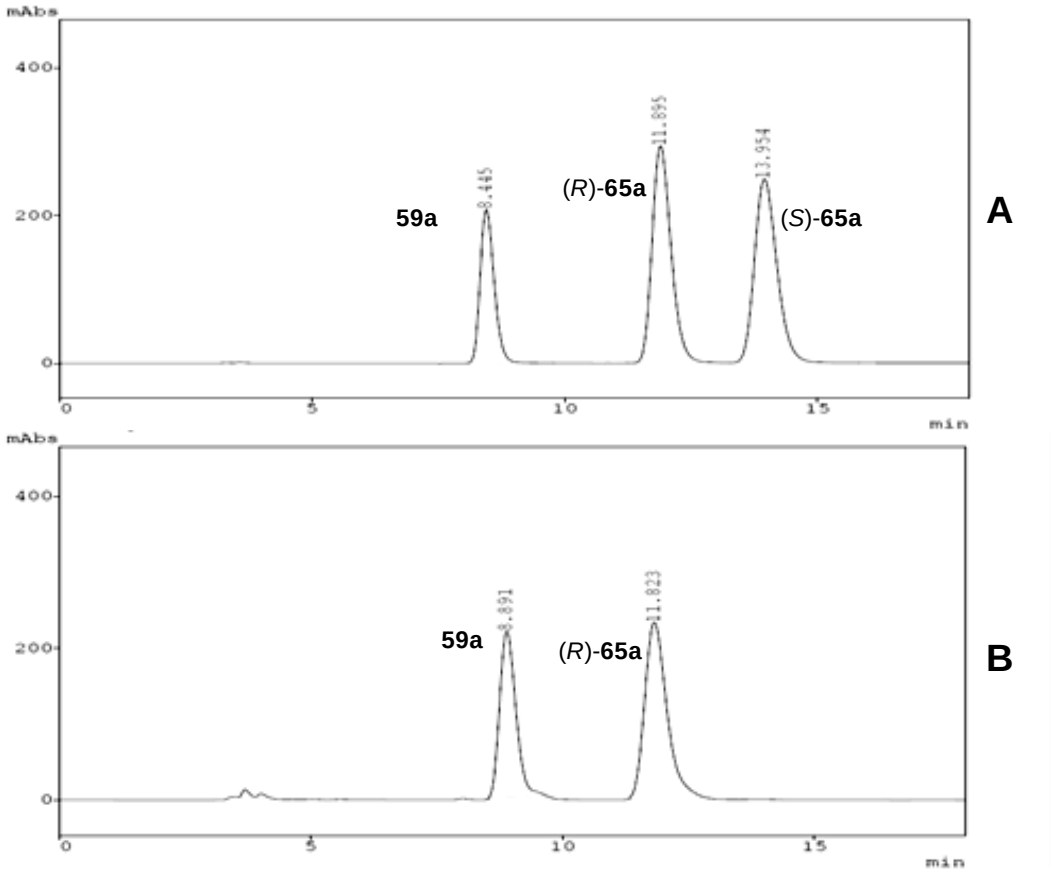


Figura 5.4. Cromatograma obtido por análise de CLAE da mistura dos compostos **59a** e (*RS*)-**65a** (cromatograma **A**), e o cromatograma obtido da análise da reação de biorredução da cetona **59a** mediada pela ADH de *L. kefir* (cromatograma **B**).

Através das áreas dos picos, foi calculado o valor da conversão da reação de biorredução. O álcool (*R*)-**65a** foi obtido com 29% de conversão.

Já para o substrato **59b**, não foi observado a formação do álcool desejado **65b**, como pode ser visto na Figura 5.5 (cromatograma B). Além disto, observou-se o aparecimento de dois sinais, os quais possuem tempos de retenção diferentes daqueles apresentados

pelo composto (*RS*)-**65b**. A estrutura química deste ou destes possíveis subprodutos não foram identificadas.

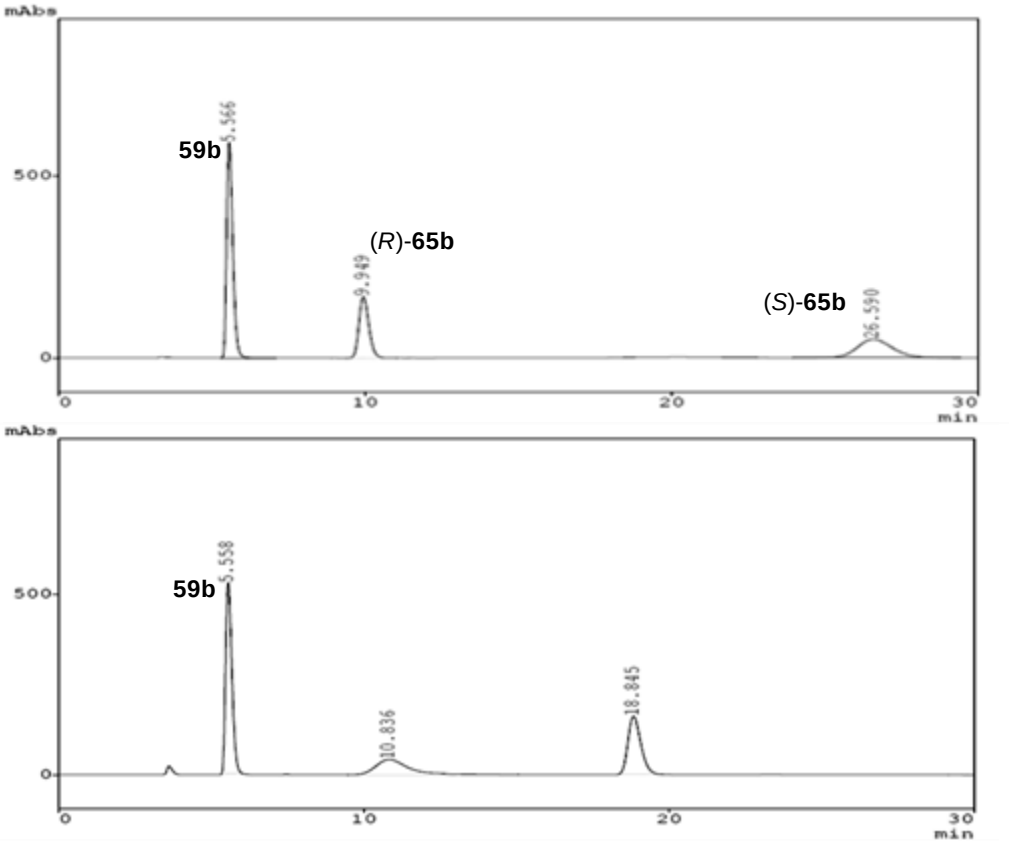


Figura 5.5. Cromatograma obtido por análise de CLAE da mistura dos compostos **59b** e (*RS*)-**65b** (cromatograma **A**), e o cromatograma obtido da análise da reação de biorredução da cetona **59b** mediada pela ADH de *L. kefir* (cromatograma **B**).

Para os estudos da reação de biorredução utilizando ADH de *T. brockii* utilizaram-se os compostos **59a,b** (0,05 mmol; 12,4 mg) em solução tampão fosfato de pH 7,8 juntamente com 20% em volume de solvente orgânico (*i*-PrOH), o cofator (NADPH, 0,01mmol) e 0,01 mmol (8,3 mg) da álcool desidrogenase de *T. brockii*.

Como pode-se observar nas Figura 5.6 e 5.6 (cromatograma B), a ADH de *T. brockii* não favoreceu a biorredução das cetonas **59a,b**, e novamente observa-se o aparecimento de dois produtos desconhecidos na biorredução do composto **59b** (Figura 5.7).

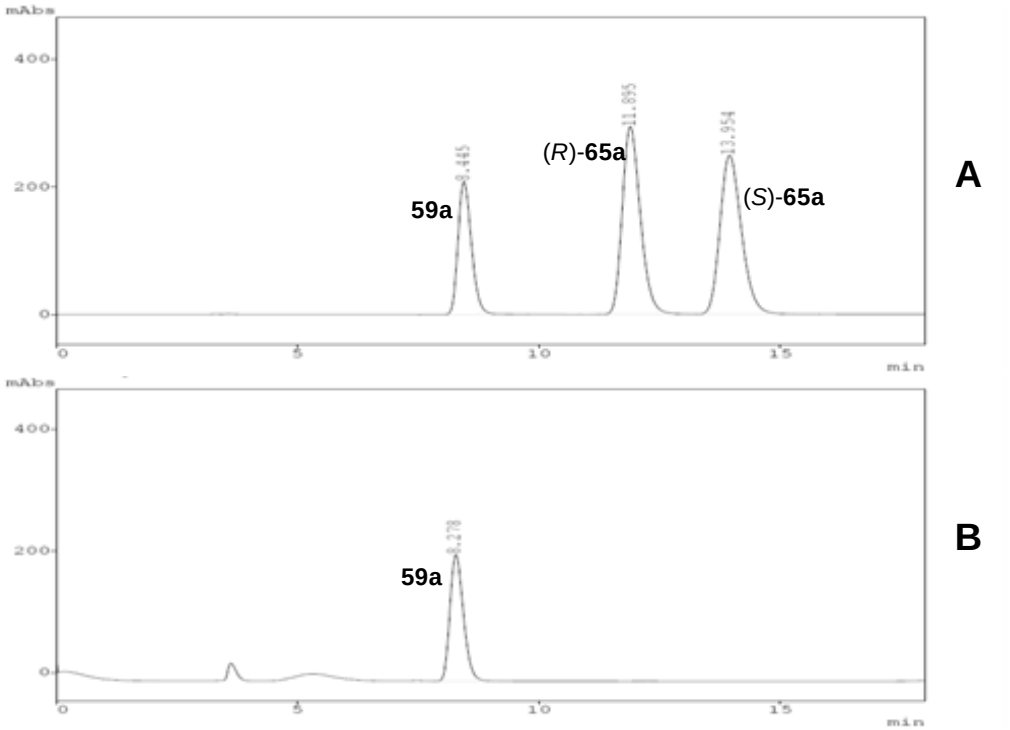


Figura 5.6. Cromatograma obtido por análise de CLAE da mistura dos compostos **59a** e (*RS*)-**65a** (cromatograma **A**), e o cromatograma obtido da análise da reação de biorredução da cetona **59a** mediada pela ADH de *T. brockii* (cromatograma **B**).

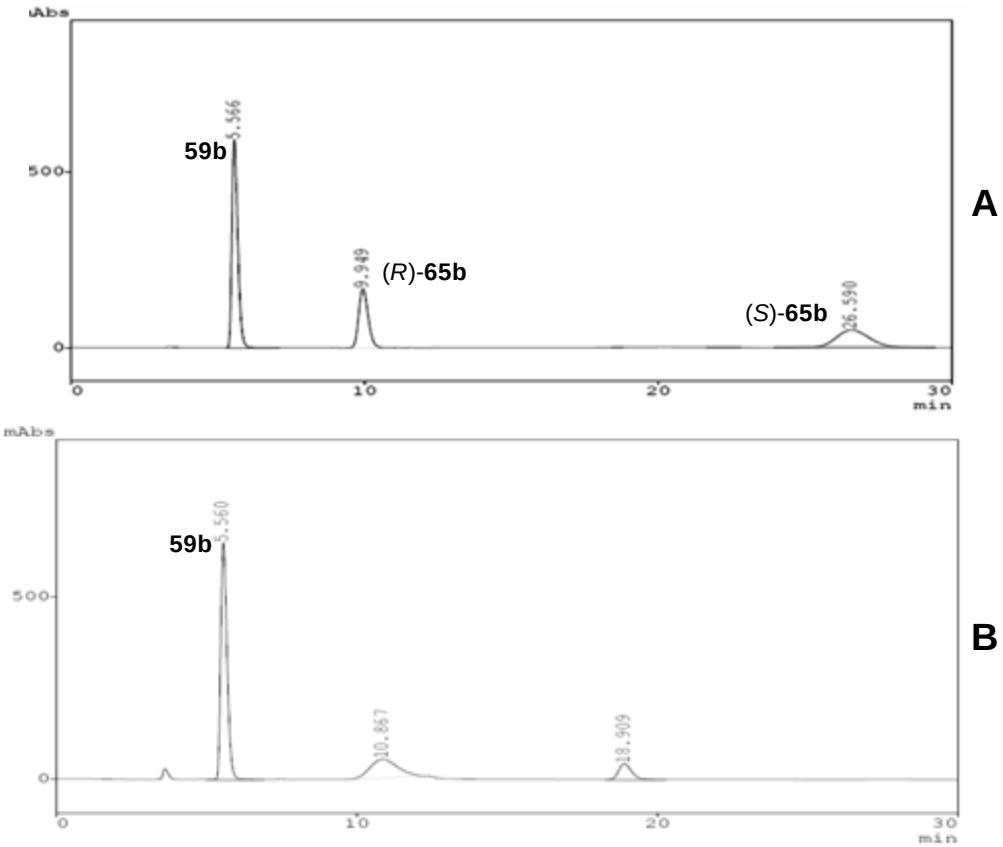
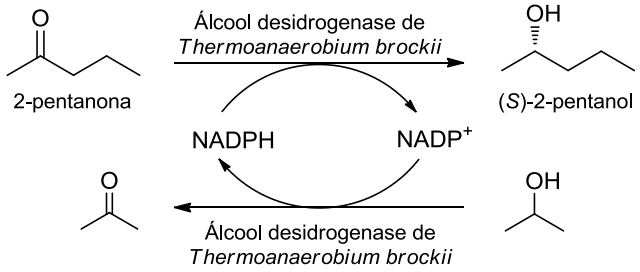


Figura 5.7. Cromatograma obtido por análise de CLAE da mistura dos compostos **59b** e (*RS*)-**65b** (cromatograma **A**), e o cromatograma obtido da análise da reação de biorredução da cetona **59b** mediada pela ADH de *T. brockii* (cromatograma **B**).

Como a reação de biorredução dos compostos **65a** e **65b** empregando a ADH de *T. brockii,* não foi favorecida, decidiu-se avaliar a atividade desta enzima usando um substrato já descrito para esta enzima. Realizou-se a reação de biorredução utilizando a 2-pentanona (0,05 mmol; 5,28µL) em solução tampão fosfato de pH 7,8 juntamente com 20% v/v de solvente orgânico (*i*-PrOH) e 0,01 mmol (8,3 mg) da álcool desidrogenase de *T. brockii*.



Esquema 5.5. Reação de biorredução da 2-pentanona utilizando ADH de *T. brockii* e regeneração do cofator com 2-propanol.

Através da análise por cromatografia gasosa observa-se que a cetona empregada foi convertida totalmente no 2-pentanol, mostrando que a enzima estava ativa. A configuração absoluta do 2-pentanol não foi determinada. Desta forma, pode-se afirmar que os compostos **59a** e **59b** não se mostraram bons substratos para a ADH de *T. brockii*.

5.2.3. Biorredução de cetonas contendo boro mediada por ADHs isoladas de Ralstonia sp., Lactobacillus brevis e Rodococcus ruber

Como havia o interesse de um estudo mais completo sobre as reações de biorredução de cetonas contendo grupos organoborônicos e, devido à dificuldade de acesso a ADHs de outros microorganismos, ou até mesmo ADHs modificadas geneticamente, foi realizado um trabalho em colaboração com o laboratório do Prof. Wolfgang Kroutil da Universidade de Graz na Áustria.

O laboratório do Prof. Kroutil é responsável pela publicação de diversos estudos na área de biocatálise especialmente em reações de biorredução com ADHs isoladas de diferentes microorganismos, e que não estão disponíveis para comercialização.

Para este trabalho em colaboração, foram sintetizadas em nosso laboratório diferentes cetonas pró-quirais contendo boro e os respectivos álcoois na forma racêmica como mostrado na Figura 5.8. Além disso, realizou-se o desenvolvimento do método de separação dos enantiômeros para análise cromatográfica quiral.

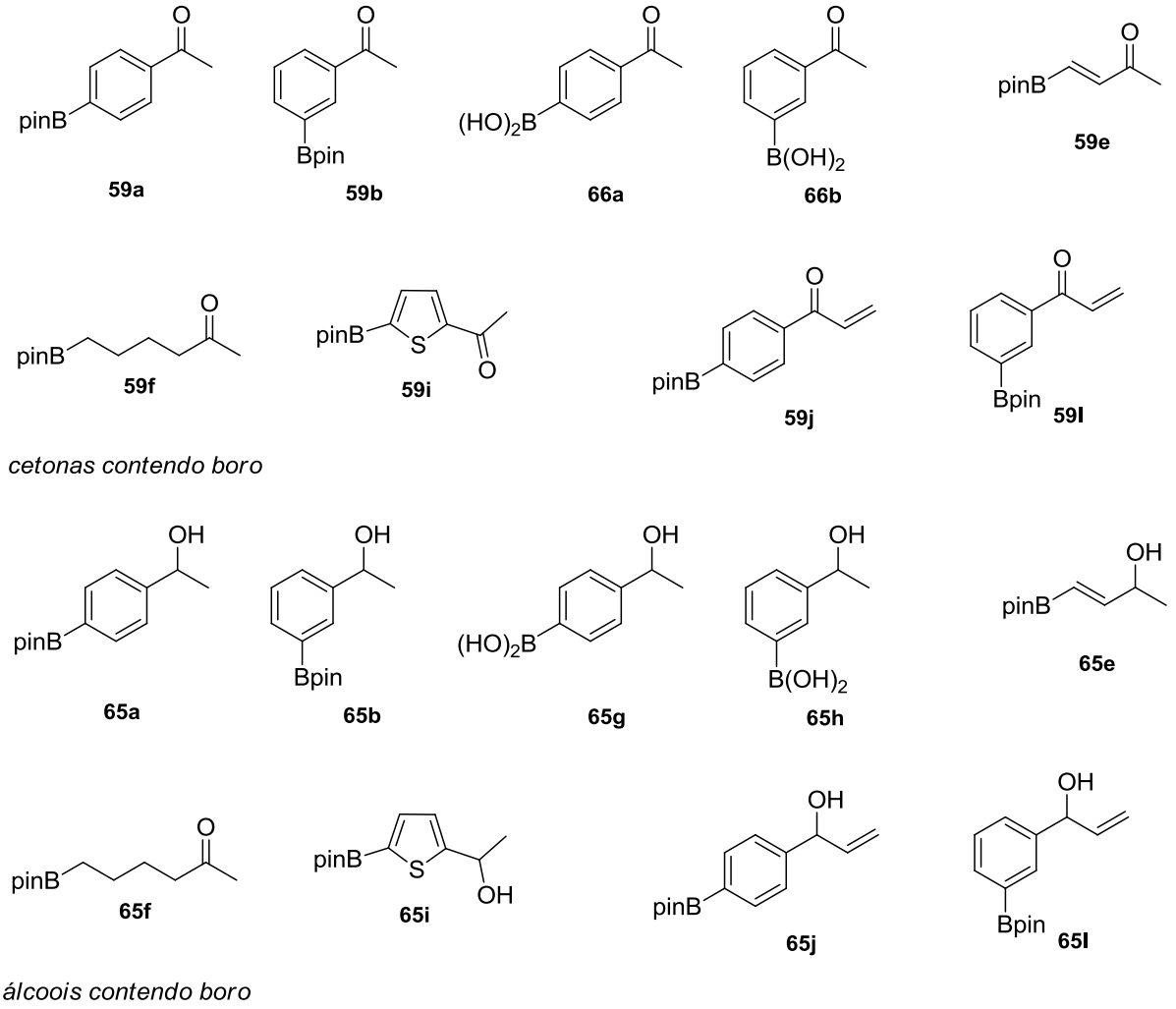
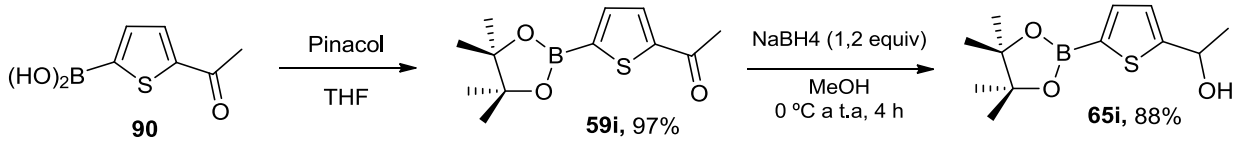


Figura 5.8. Cetonas e álcoois contendo boro utilizados como substratos em reações de biorredução mediada por enzimas ADHs.

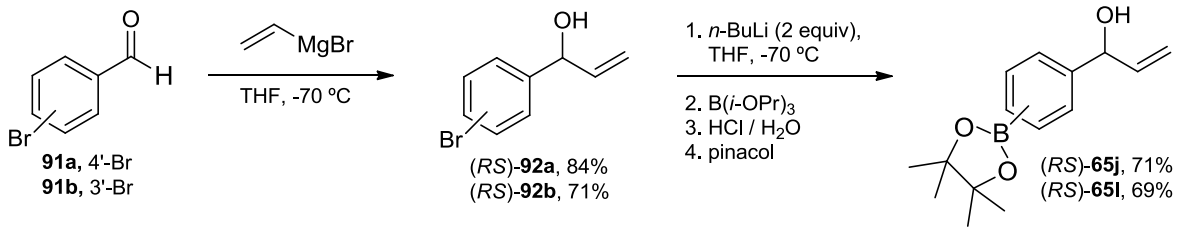
A síntese das cetonas **59a,b** e dos álcoois **65a,b**,**g**, e **65h** já havia sido realizada, e os ácidos borônicos **66a,b** são disponíveis comercialmente.

A cetona **59i** foi obtida pela simples esterificação do ácido 5-acetil-2-tiofenoborônico (**90**) disponível comercialmente, em um alto rendimento. O álcool correspondente (*RS*)-**65i** foi obtido pela redução da carbonila com $NaBH_4$ com 88% de rendimento (Esquema 5.6).



Esquema 5.6. Reação de esterificação do ácido 5-acetil-2-tiofenoborônico (**90**) com pinacol para a formação da cetona **59i**, e posterior redução para a obtenção do éster pinacólico do ácido [5-(1-hidroxietil)tiofen-2-il]borônico (*RS*)-**65i**.

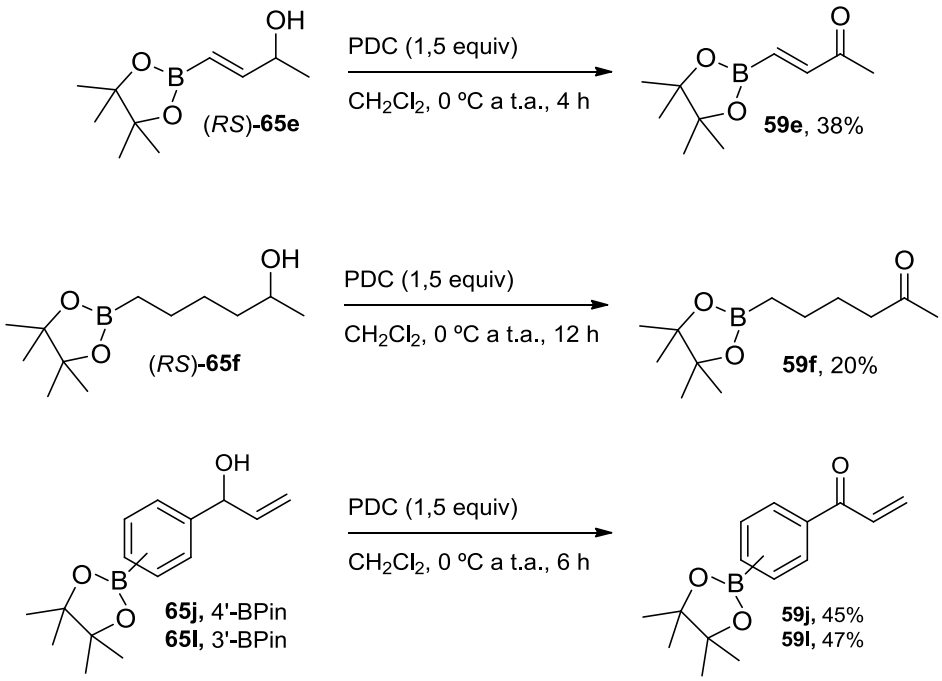
Para a síntese dos álcoois **65j,l** inicialmente foi realizado através de uma reação de Grignard a adição do brometo de vinilmagnésio aos bromo-benzaldeídos **91a,b**, levando a formação dos álcoois alílicos (*RS*)-**92a,b** com 84 e 71% de rendimento (Esquema 5.7). Na sequência, sem a necessidade de proteger o grupo hidroxila, realizou-se uma reação de troca bromo-lítio seguido da adição do reagente de boro, o triisopropilborato, que após hidrólise e esterificação com pinacol levou aos compostos desejados (*RS*)-**65j,l** com bons rendimentos (Esquema 5.7).



Esquema 5.7. Síntese dos ésteres pinacólicos dos ácidos (4- e 3-(1-hidroxiallil)fenil)borônicos **65j,l**.

Para a preparação das cetonas **59e,f,j,l** pensou-se em realizar o procedimento usual de oxidação de álcoois o qual emprega reagentes de cromo como o piridínio cloro cromato (PCC) e piridínio dicromato (PDC) como agentes oxidantes. Entretanto, para essas transformações foi utilizado piridínio dicromato (PDC) como oxidante devido aos substratos **65e,j,l** apresentarem duplas ligações em suas estruturas. Álcoois alílicos quando submetidos à oxidação com PCC podem sofrer transposição oxidativa, levando a formação de subprodutos que podem ser minimizados com o uso de PDC.[169]

As reações de oxidação dos álcoois **65e,f,j,l** para suas respectivas cetonas estão representadas no Esquema 5.8.



Esquema 5.8. Reação de oxidação dos álcoois (*RS*)-**65e,g,j,l**.

As cetonas **59e,f,j,l** foram obtidas em rendimentos abaixo do esperado. A cetona **59f** foi obtida com apenas 20% de rendimento. Em todos os casos, ao término da reação não era mais observado o reagente de partida.

As amostras foram enviadas ao laboratório do Prof. Kroutil, na qual foram submetidas à biorredução mediada pelas ADHs isoladas dos microorganismos *Ralstonia sp*., *Lactobacillus brevis* e a ADH recombinante de *Rhodococcus ruber* superexpressada em *Escherichia coli* (ADH-A).[170]

Cepas de *Ralstonia sp*. foram avaliadas pelo grupo do Prof. Kroutil, e observou-se que esta possui enzimas ADH capazes de reduzir cetonas impedidas estericamente.[171]

A ADH de *L. brevis* é disponível comercialmente, e tem sido empregada da redução de cetonas e cetoácidos com alta régio- e enantiosseletividade. Esta enzima tem uma enantiopreferência ao isômero-(*R*).[172]

A ADH-A presente na bactéria *R. ruber* foi empregada com sucesso na biorredução de cetonas[173-176] pelo grupo do Prof. Kroutil. A ADH-A mostrou-se altamente estável na presença de solventes orgânicos,[177-178] a forma recombinante e super-expressada em *E. coli* mostrou-se mais seletiva que a enzima original (*wild type*).[170]

Após a realização das reações, as amostras foram analisadas e os resultados obtidos são mostrados na Tabela 5.3

Como pode-se observar, o único substrato que reagiu na presença da ADH de *Ralstonia sp*. foi a cetona **59a**, levando ao álcool (*S*)-**65a** com 5% de conversão. Embora a baixa conversão, o álcool (*S*)-**65a** foi obtido com um excelente excesso enantiomérico (ee

>99%). A ADH de *L. brevis* também levou a formação do álcool (*R*)-**65a** com uma baixa conversão (13%), porém levando ao enantiômero oposto com excelente ee (ee >99%). Mas o melhor resultado observado foi a biorredução mediada pela ADH-A, no qual o álcool (*S*)-**65a** foi obtido com uma conversão de 89% e também com excelente ee (ee >99%).

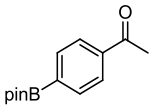
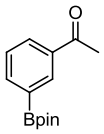
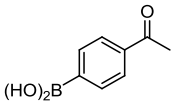
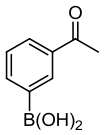
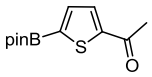
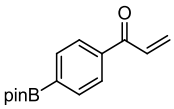
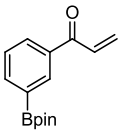
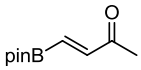
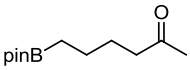
Como pode-se observar nos demais resultados da Tabela 5.3, a ADH-A foi a ADH que levou aos melhores resultados quanto a conversão, levando aos álcoois de configuração-(*S*) com ee >99%.

Um resultado interessante é a conversão das cetonas **59a** e **59b** as quais contem o grupo ácido borônico. Os respectivos álcoois foram obtidos com conversões de 30% e 39% respectivamente. Podendo considerar que as cetonas contendo o grupamento ácido borônico na molécula poderia ocasionar um efeito de inibição enzimática, estes resultados podem ser considerados excelentes.

As cetonas α,β-insaturadas **59f,g**, contendo uma dupla ligação terminal, não se mostraram bons substratos para nenhuma das três ADH avaliadas, e não foi observada a formação dos respectivos álcoois **65f**,**g**.

Da série de compostos avaliados, os melhores substratos foram a cetona α,β-insaturada **59h**, e a cetona alifática **59i**. A ADH-A mediou a formação dos respectivos produtos, os álcoois (*S*)-**65h,i** com excelentes conversões, em que o álcool (*S*)-**65h** foi obtido com uma conversão >99%. Já o álcool (*S*)-**65i** foi obtido com 92% de conversão.

Tabela 5.3. Biorredução das cetonas contendo boro **59a-i** mediada pelas ADHs de *Ralstoni sp.*, *L. Brevis* e ADH-A[a]

#	substrato	ADH	produto	
			c (%)[b]	*ee* (%)[c]
1	 **59a**	*Ralstonia* sp	5	>99 (*S*)
		L. brevis	13	>99 (*R*)
		ADH-A	89	>99 (*S*)
2	 **59b**	*Ralstonia* sp	0	-
		L. brevis	0	-
		ADH-A	67	>99 (*S*)
3	 **66a**	*Ralstonia* sp	0	-
		L. brevis	10	>99 (*R*)
		ADH-A	30	>99 (*S*)
4	 **66b**	*Ralstonia* sp	0	-
		L. brevis	0	-
		ADH-A	39	>99 (*S*)
5	 **59i**	*Ralstonia* sp	0	-
		L. brevis	0	-
		ADH-A	43	>99 (*S*)
6	 **59j**	*Ralstonia* sp	0	-
		L. brevis	0	-
		ADH-A	0	-
7	 **59l**	*Ralstonia* sp	0	-
		L. brevis	0	-
		ADH-A	0	-
8	 **59e**	*Ralstonia* sp	0	-
		L. brevis	0	-
		ADH-A	>99	>99 (*S*)
9	 **59f**	*Ralstonia* sp	0	-
		L. brevis	14	>99 (*R*)
		ADH-A	92	>99 (*S*)

[a] Condições reacionais: substrato (50 mM), 2-PrOH (200 μM), solução tampão fosfato (50 mM, pH 7,5), NADPH (1 mM para a ADH de *L. brevis*), NADH (1 mM para a ADH-A), ADH-LB (300 μL, extrato cru), ADH-A (150 μL, precipitado térmico), 24 h, 30 ºC, 120 rpm.
[b] Determinado por cromatografia gasosa.
[c] Determinado por análise em CLAE com fase estacionária quiral.

Com estes resultados, pode-se ver que é possível realizar uma reação de biorredução de cetonas contendo boro, levando a formação dos correspondentes álcoois com excelente enantiosseletividade. Como pode-se observar neste estudo, a atividade das enzimas ADH avaliadas foi bastante influenciada pela estrutura do substrato, o que significa que a presença do grupamento organoborônico não seja um fator crucial para a atividade das ADHs.

6. Identificação estrutural dos compostos de boro sintetizados neste estudo

6.1. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{1}H e ^{13}C

A estrutura química dos álcoois, aminas e cetonas contendo boro sintetizados foram facilmente confirmadas por espectroscopia de ressonância magnética (RMN) de ^{1}H e ^{13}C. Como se trata de compostos estruturalmente simples, foi possível fazer o assinalamento dos hidrogênios, bem como dos carbonos das moléculas sem a necessidade de técnicas de RMN bidimensionais.

Utilizando como exemplo o álcool **65a**, através do espectro de RMN de ^{1}H (Figura 6.1), pode-se observar em 1,13 ppm um singleto intenso referente aos 12 hidrogênios dos grupos metilas do grupamento éster borônico. Em 1,47 ppm encontra-se um dubleto, com uma constante de acoplamento (*J*) de 6,4 Hz, referente ao grupamento metila. O hidrogênio ligado ao carbono assimétrico apresenta-se como um quadrupleto em 4,90 ppm com uma constante de acoplamento de 6,4 Hz. Em 7,37 e 7,79 ppm encontram-se os sinais referentes aos hidrogênios ligados ao anel aromático, que apresentam-se como dois dubletos com uma constante de acoplamento de 8,0 Hz, e integral relativa a dois hidrogênios para cada sinal.

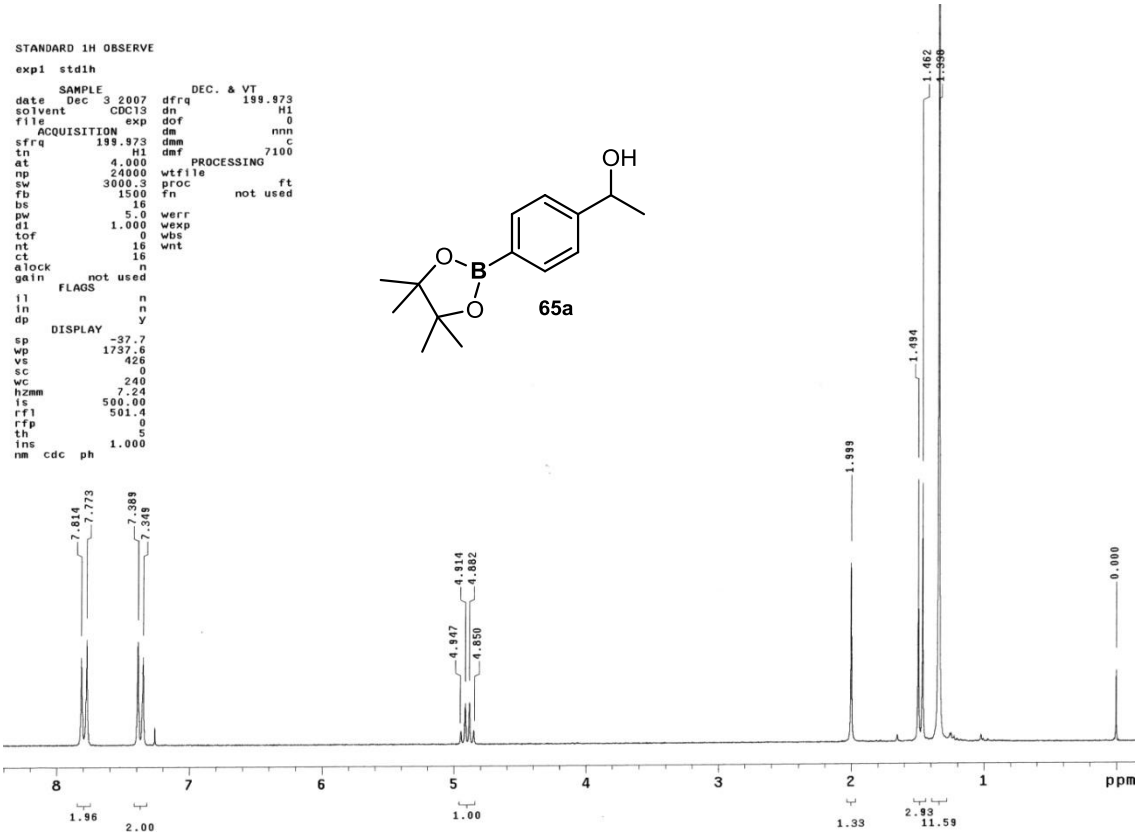


Figura 6.1. Espectro de RMN de ^{1}H do composto **65a** (200 MHz, $CDCl_3$).

Com relação aos espectros de RMN de ^{13}C de compostos orgânicos de boro é interessante salientar a ausência do sinal referente ao carbono ligado diretamente ao átomo de boro, como pode-se observar no espectro de RMN de ^{13}C do composto **65a** (Figura 6.2). Para o álcool **65a** seria esperada a presença de 8 sinais, porém são observados apenas 7 sinais.

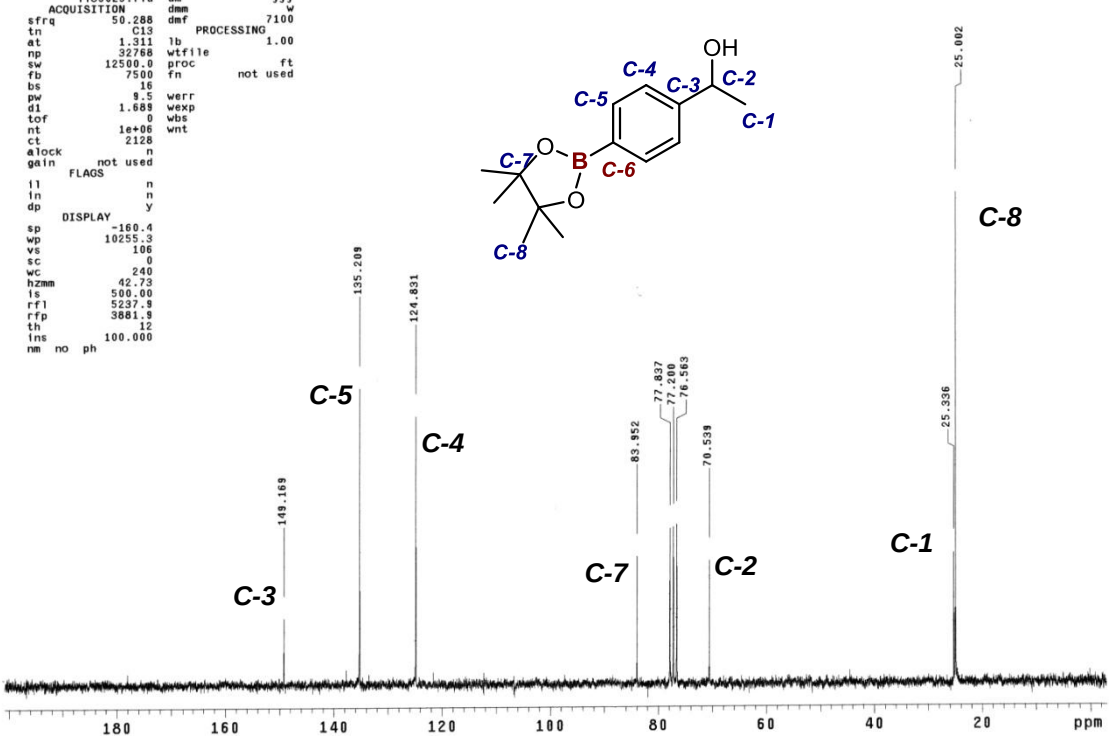


Figura 6.2. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **65a** (50 MHz, $CDCl_3$).

Este fato ocorre devido à natureza quadrupolar de ambos os isótopos de boro (^{11}B com 80,1 % em abundância, I = 3/2 e ^{10}B com 19,9 % em abundância, I = 3). Portanto, o formato do sinal do átomo de carbono ligado diretamente ao boro está fortemente relacionado à velocidade de relaxação quadrupolar do átomo de boro, o que leva a uma drástica redução na intensidade do sinal, e devido à pequena abundância natural do ^{13}C (1,11%), um grande número de pulsos são necessários para obter o sinal do carbono ligado ao átomo de boro com razoável relação sinal/ruído.[179]

6.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{11}B

Na natureza encontram-se dois isótopos estáveis de boro, o ^{11}B e o ^{10}B com abundância natural de 80,1% e 19,9% respectivamente. Ambos os isótopos possuem momento magnético, e assim exibem absorção característica na técnica de RMN.

Entretanto o ^{11}B é o melhor núcleo para se detectar por RMN, não só pela abundância que leva a um sinal mais intenso, mas também pelo maior momento magnético o que leva a uma melhor relação sinal/ ruído, e pelo valor do spin (*I*) magnético. O núcleo do ^{11}B possui spin 3/2 enquanto o ^{10}B possui spin 3. Assim, o isótopo ^{10}B possui um maior momento de quadrupolo, o que leva a diminuição na velocidade de relaxação quadrupolar diminuindo a intensidade do sinal.[180]

Os deslocamentos químicos reportados são relativos ao $BF_3.OEt_2$ (0,00 ppm) que é o composto padrão utilizado nesta técnica. Porém, devido à reatividade deste composto, o aparelho é calibrado previamente com uma amostra do padrão de $BF_3.OEt_2$ (15% em volume de $BF_3.OEt_2$ em $CDCl_3$).[181] O sinal referente à absorção do átomo de ^{11}B do padrão $BF_3.OEt_2$ é mostrado na Figura 6.3.

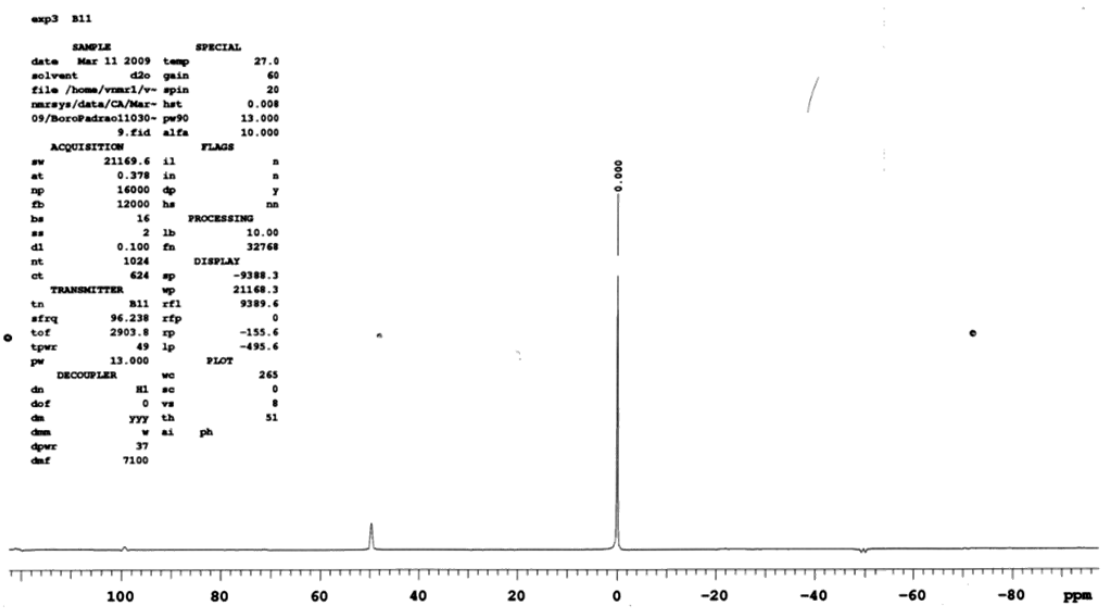
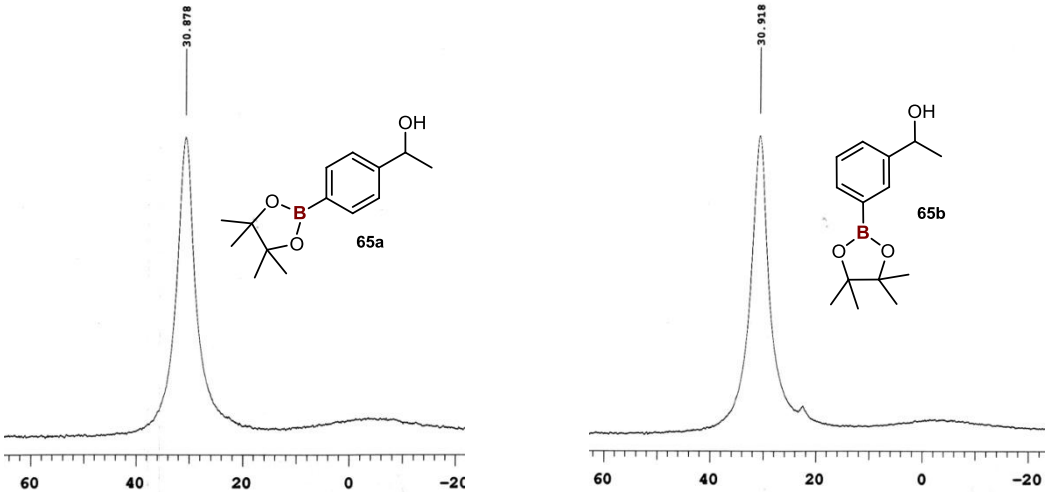


Figura 6.3. Espectro de RMN de ^{11}B (96 MHz) do padrão externo $BF_3.OEt_2$ (15% em $CDCl_3$).

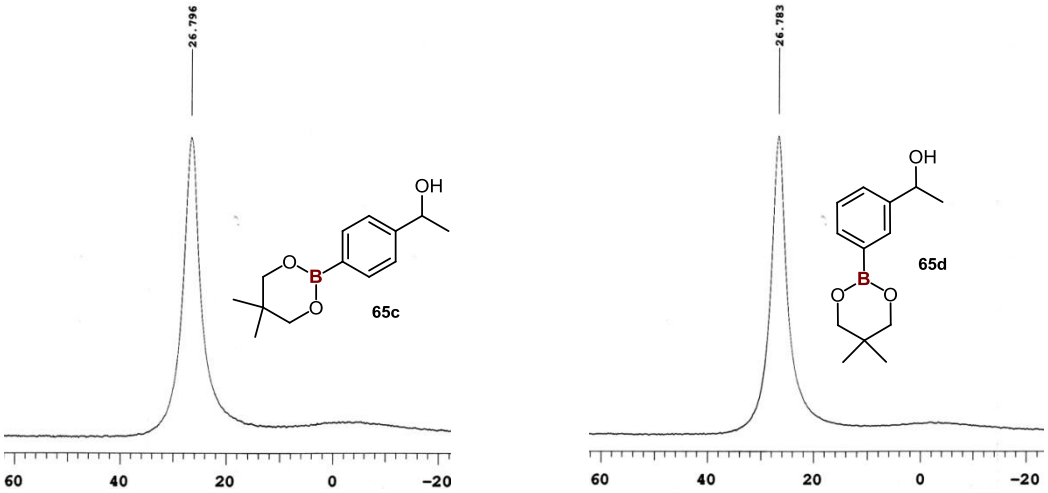
Todos os compostos contendo boro que foram sintetizados neste trabalho foram também analisados por esta técnica. Embora a janela espectral dos compostos de boro seja bastante ampla (-90 a 120 ppm), os seus deslocamentos químicos são bastante semelhantes entre uma mesma classe de compostos. Isto foi observado nas análises realizadas, no qual todos os compostos sintetizados, com exceção dos ácidos borônicos

65g,h, são ésteres borônicos, seja formado a partir do pinacol ou do neopentilglicol. Os deslocamentos químicos destes compostos ficaram entre 26 a 34 ppm, no qual observa-se uma pequena variação no deslocamento químico dependendo do éster borônico ou do grupo funcional ligado ao átomo de boro. A posição do átomo de boro no anel aromático também não leva a uma diferença significativa no deslocamento químico. Estas constatações podem ser observadas nas Figuras 6.4 e 6.5, que mostram apenas o único sinal referente ao isótopo de ^{11}B das amostras exemplificadas.



(A) **(B)**

Figura 6.4. Espectro de RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) dos compostos **65a** (30,878 ppm, espectro A) e **65b** (30,918, espectro B) mostrando a pequena variação do deslocamento químico.



(A) **(B)**

Figura 6.5. Espectro de RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) dos compostos **65c** (26,796 ppm, espectro A) e **65d** (26,783, espectro B).

6.3. Espectroscopia de absorção no infravermelho

A ligação B-O presente em ésteres borônicos é caracterizada por uma forte deformação axial, absorvendo entre 1380-1310 cm^{-1}, enquanto que a deformação axial da ligação O-H das hidroxilas presente no ácido borônico absorvem em 3300-3200 cm^{-1}. A técnica de espectroscopia de absorção no infravermelho é particularmente utilizada para se observar a formação de anidridos borônicos a partir do ácido borônico. Com a formação de anidridos, o estiramento da ligação O-H desaparece e uma nova e intensa absorção aparece entre 680-705 cm^{-1}.[70]

No espectro de absorção na região do infravermelho do composto **65a** (Figura 6.6), é possível identificar uma banda intensa da absorção correspondente ao estiramento da ligação B-O do grupamento éster borônico (1362 cm^{-1}). Adicionalmente em 3330 cm^{-1} encontra-se a banda referente ao estiramento da ligação O-H do grupamento hidroxila.

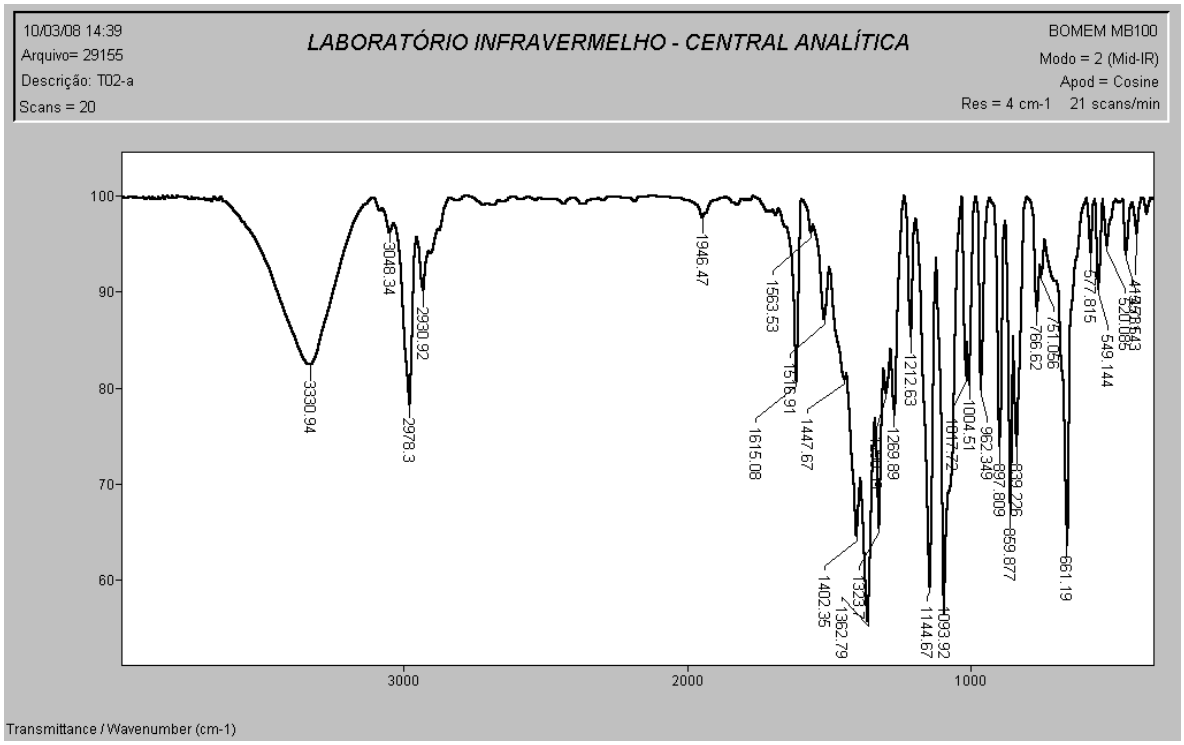


Figura 6.6. Espectro de absorção no infravermelho do composto **65a**.

7. Conclusões

Neste trabalho, foi mostrada a viabilidade do uso de reações enzimáticas para a preparação de compostos opticamente ativos contendo boro. Já nos primeiros estudos realizados durante este trabalho, com a resolução cinética enzimática dos álcoois secundários quirais contendo boro, foi possível mostrar que apesar de compostos de boro serem até então conhecidos como inibidores enzimáticos, nas condições adequadas, é possível realizar a reação de acilação com excelente enantiosseletividade (E > 200).

Embora apenas seis diferentes substratos tenham sido avaliados neste estudo, a variação estrutural destes substratos mostra a abrangência da metodologia, e assim, podendo ser aplicada para outros substratos.

Porém, a natureza do grupo organoborônico pode influenciar na conversão da reação, como foi constatado na reação de RCE dos álcoois contendo o grupo ácido borônico. Nesse caso, embora o produto da reação tenha sido obtido com excelente enantiosseletividade (ee >99%), foram observadas baixas conversões na formação do produto acetilado.

Com relação às reações de resolução cinética quimio-enzimáticas, empregando complexos de rutênio, foram necessários transpor algumas barreiras relacionadas à compatibilidade dos complexos de rutênio avaliados. A baixa estabilidade destes complexos na presença da lipase não é explicitamente reportada na literatura e, portanto, foi necessário avaliar sistematicamente e encontrar uma solução para este problema. Com a substituição do Na_2CO_3 utilizado como base por K_3PO_4 foi possível obter o produto acetilado mantendo a excelente enantiosseletividade, e com rendimentos moderados.

Em relação aos estudos de RCE de aminas contendo o grupamento éster pinacolilborônico, embora tenham sido obtidos excelentes resultados quanto à enantiosseletividade da reação (E >200) e uma boa conversão na obtenção dos produtos acilados (até 45%), foi observada uma possível inibição acarretada pelo produto da reação, impedindo a completa conversão da RCE (50%).

Os estudos visando a biorredução de cetonas pró-quirais contendo boro mostraram que também é possível realizar esta biotransformação. Tanto os experimentos realizados em nosso laboratório, quanto em colaboração com o laboratório do Prof. W. Kroutil mostraram que ambos os enantiômeros dos álcoois contendo boro podem ser obtidos, dependendo da enzima álcool desidrogenase empregada.

Como conclusão final deste trabalho, pode-se dizer que este foi o primeiro estudo em que compostos de boro foram empregados como substratos biotransformações. Estes estudos são importantes, não somente por mostrar que compostos contendo o átomo de

boro podem ser substratos adequados as reações enzimáticas, mas também ser a base para estudos envolvendo outras reações de biotransformação, fornecendo compostos de boro que podem também ser utilizados como blocos de construção para a síntese de moléculas mais complexas.

8. Parte experimental

8.1. Materiais e instrumentação analítica

Os reagentes obtidos comercialmente foram utilizados sem prévia purificação e as enzimas mantidas a uma temperatura de 4 ºC. Nas reações enzimáticas foram utilizados solventes grau HPLC e os solventes THF e tolueno foram utilizados após tratamento com fios de sódio sob refluxo e atmosfera de nitrogênio, utilizando benzofenona como indicador de ausência de água e oxigênio. O diclorometano anidro foi obtido pelo tratamento com CaH_2 e mantido sob peneira molecular (4Å).[182]

As análises cromatográficas em camada delgada foram realizadas empregando-se cromatofolhas de sílica gel 60 F_{254} da marca Merck®, as quais foram revelas sob luz ultravioleta (λ = 254), solução de vanilina em uma mistura de ácido sulfúrico/etanol (6% vanilina m/v, 4% ác. sulfúrico e 10% de água, v/v) ou solução de *p*-anisaldeído e iodo. As purificações por cromatografia em coluna foram realizadas utilizando sílica gel da marca Acros Organics® (0,035-0,070 mm).

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^{1}H e ^{13}C foram obtidos em um espectrômetro Varian Gemini 200 (^{1}H, 200 MHz; ^{13}C, 50 MHz) ou no espectrômetro Bruker DRX 500 (^{1}H, 500 MHz; ^{13}C, 125 MHz), pertencente ao Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear da Central Analítica do Instituto de Química da USP, São Paulo. Os espectros foram obtidos em $CDCl_3$, utilizando tetrametilsilano (TMS) como padrão interno para os espectros de RMN de ^{1}H. Para os espectros de RMN de ^{13}C foi usado como padrão interno o pico central do tripleto do $CDCl_3$, que foi ajustado para 77,23 ppm. Os deslocamentos químicos (δ) estão expressos em parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (*J*) em Hertz (Hz). A multiplicidade dos sinais observados está indicada pelas seguintes abreviaturas: s = singleto, sl = singleto largo, d = dubleto, dd = duplo dubleto, t= tripleto, q = quadrupleto, quint = quintupleto, sext = sextupleto e m = multipleto.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^{11}B foram obtidos em um espectrômetro Varian Inova 300 (^{1}H, 300 MHz; ^{11}B, 96 MHz) utilizando $BF_3.OEt_2$ como padrão externo (0.00 ppm).

Os espectros de absorção no infravermelho foram obtidos em um intervalo de 4000 – 600 cm^{-1}, na forma de filme líquido ou pastilha de KBr, utilizando um espectrofotômetro da marca Bomen Michelson - 101, com transformada de Fourier e calibração interna, pertencente a Central analítica do Instituto de Química da USP.

Os espectros de massas de alta resolução (EMAR) foram obtidos a partir de um aparelho Bruker Daltonics MicroTOF, com detector ESI-TOF (*electron spray ionization – time*

of flight) operando em modo positivo. Essas análises foram realizadas pela Central Analítica do Instituto de Química da USP.

Os espectros de massas de baixa resolução (EM) foram obtidos a partir de um cromatografo gasoso acoplado a um espectômetro de massa (CG-EM) Shimadzu QP5050A, com o potencial de ionização operando em 70 eV, pertencente ao laboratório do Prof. João Valdir Comasseto.

Os valores de rotação específica foram medidos em um polarímetro Perkin Elmer-343. Os valores descritos são referentes a linha de Na (λ = 589,3 nm), utilizando uma cubeta de 1 dm, sendo que a concentração (*c*) foi estabelecida em g/100 mL.

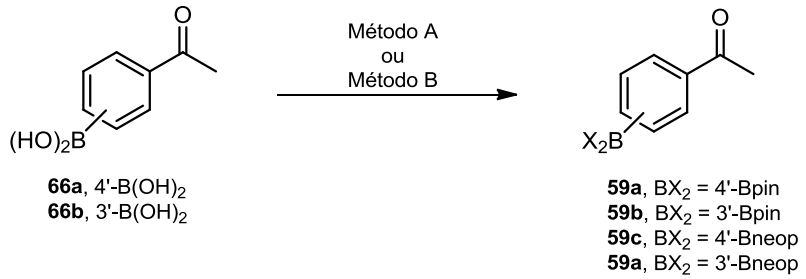
Os valores de ponto de fusão (pf.) foram determinados em um aparelho da marca Buchi®, modelo B-545 não aferido.

As análises de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para a medida dos excessos enantioméricos foram realizadas em cromatógrafo líquido da marca Shimadzu, modelo LC-10AD, equipado com detector de ultravioleta. Foi utilizado como eluente a mistura de *n*-hexano e isopropanol em diferentes proporções. Foram utilizadas colunas com fase estacionária quiral, Chiralcel OJ-H, Chiralcel OD e Chiralcel OD-H da marca Daicel®.

As análises de cromatografia gasosa (CG) para a medida dos excessos enantioméricos foram realizadas em um cromatógrafo Shimadzu 17-A, equipado com injetor automático e detector de ionização de chama (FID), utilizando uma coluna quiral Varian CP-Chirasil-DEX CB β-ciclodextrin (25 m x 0.32 mm x 0.25μm). Temperatura do detector e do injetor = 220 º C; fluxo o gás de arraste (H_2) = 100 kPa.

8.2. Procedimentos experimentais

*8.2.1. Procedimento geral para a esterificação do grupamento ácido borônico dos ácidos borônicos **66a,b** e **90***



Método A: Em um balão de 50 mL, contendo o ácido acetil-fenilboronico **66** (6,0 mmol; 983 mg), pinacol (6,2 mmol, 732 mg) e acetato de etila (30 mL) foi adicionado $MgSO_4$ (3,75 g). A mistura reacional foi sob agitação magnética e formação do produto foi acompanhada por CCD. Após 4 horas de reação a mistura reacional foi filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto final foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel, utilizando-se uma mistura de hexano e acetato de etila (8:2) como eluente.

Método B: Em um balão de 50 mL, contendo THF anidro (30 mL), foram adicionados o ácido borônico **66a,b** ou **90** (6,0 mmol; 983 mg) e o apropriado diol (6 mmol). A solução resultante foi evaporada sob pressão reduzida a 40 ºC. Este procedimento foi repetido (3 vezes) até a análise por CCD indicar a o consumo completo dos reagentes. O produto final foi filtrado utilizando uma pequena coluna de sílica gel, utilizando uma mistura de hexano e acetato de etila (8:2) como eluente.

1-[4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]etanona (59a)[183]

Obtido como um sólido branco (p.f.: 66,3 – 67,7 °C), com 98% de rendimento (1,447 g).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,36 (s, 12H), 2,61 (s, 3H), 7,92 (s, 4H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ = 24,81, 26,69, 84,16, 127,22, 134,87, 138,95, 198,37,

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 30.59.

IV-TF (KBr): ν_{max} = 2986, 1661, 1509, 1398, 1358, 1267, 1142, 1092,959, 857, 830, 654 cm^{-1}.

CG-EM [*m/z* (%)] = 246(2, M^+), 231(15), 160(16), 147(48), 131(17), 85(16), 77(15), 42(100).

1-[3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]etanona (59b)[183]

Obtido como um sólido branco (p.f.: 50,7 – 52,5 °C), com 99% de rendimento (1,461 g).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CHCl_3$) δ = 1,36 (s, 12H), 2,63 (s, 3H), 7,47 (t, *J* = 7,4Hz, 1H), 7,97 – 8,09 (m, 2H), 8,36 (s, 1H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ = 25,07, 26,92, 84,34, 130,94, 134,99, 136,72, 139,58, 142,62, 198,56.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 30,69.

IV-TF (KBr): ν_{max} = 2967, 1685, 1596, 1357, 1322, 1250, 1149, 959, 862, 702, 593 cm^{-1}.

CG-EM [*m/z* (%)] = 246 (15) [M^+], 231(100), 203(42), 185(14), 160(4), 147(55), 131(12), 85(7), 77(4).

1-[4-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)fenil]etanona (59c)[184]

Obtido como um sólido branco (p.f.: 89,2 – 90,7 °C, Lit, 88 °C), com 97% de rendimento (1,351 g).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CHCl_3$) δ = 1,03 (s, 6H), 2,61 (s, 3H), 3,78 (s, 4H), 7,90 (s, 4H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ = 23,63, 26,86, 33,06, 72,55, 127,60, 134,40, 138,77, 198,77.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 26,54

IV-TF (KBr): ν_{max} = 2962, 1678, 1477, 1250, 1133, 835, 694, 644 cm^{-1}.

CG-EM [*m/z* (%)] = 232(20, M^+), 217(100), 189(6), 147(10), 121(15), 103(12), 77(11), 69(27).

1-[3-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)fenil]etanona (59d)[185]

Obtido como um sólido branco (p.f.: 56,7 – 57,5 °C), com 96% de rendimento (1,337 g).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CHCl_3$) δ = 1,03 (s, 6H), 2,63 (s, 3H), 3,78 (s, 4H), 7,44 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 8,01 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 8,37 (s, 1H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ = 22,17, 26,97, 32,08, 72,52, 128,03, 130,58, 134,42, 136,56, 138,91, 198,81.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 26,63.

IV-TF (KBr): ν_{max} = 2971, 1677, 1484, 1426, 1255, 1136, 811, 700, 595 cm^{-1}.

CG-EM *[m/z (%)]* = 232(10, M^+), 217(100), 189(2), 147(7), 121(13), 102(7), 77(8), 69(30).

1-(5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)tiofen-2-il)etanona (59i)

Obtido como um sólido branco (p.f.: 67,9 – 68,8 °C), com 97% de rendimento (1,221 g).

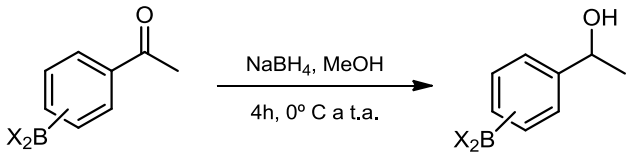
RMN de ^{1}H (200 MHz, $CHCl_3$) δ = 1,35 (s, 12H), 2,58 (s, 3H), 7,58 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H), 7,73 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 24,86, 27,56, 84,77, 132,81, 137,39, 149,62, 190,71.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 28,90

EMAR [ESI (+)]: Calculado para $C_{12}H_{17}BO_3SNa$ $[M + Na]^+$: 275,0889; encontrado: 275,0885.

8.2.2. Procedimento geral para reação de redução dos ésteres acetil-fenilborônicos ***59a-d***



59a, BX_2 = 4'-Bpin
59b, BX_2 = 3'-Bpin
59c, BX_2 = 4'-Bneop
59d, BX_2 = 3'-Bneop

65a, 98%
65b, 98%
65c, 48%
65d, 54%

Em um balão de 100 mL, foi adicionado o éster borônico **59** (4 mmol) e metanol (10 mL). A solução foi resfriada a 0 °C e após foi adicionado lentamente $NaBH_4$ (4,8 mmol; 182 mg). A mistura reacional foi mantida a 0 °C por 30 min. e mais 4 horas a temperatura ambiente. A mistura reacional foi novamente esfriada a 0 °C e tratada com uma solução aquosa de HCl (1 M) até pH 7. A fase orgânica foi extraída com acetato de etila (3x 10 mL), seco com $MgSO_4$ anidro e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto desejado foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando hexano e acetato de etila (8:2) como eluente.

1-[4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]etanol (65a)

Obtido como um sólido branco (p.f.: 79,6 – 81,2 °C), com 98% de rendimento (972 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,33 (s, 12H), 1,47 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 1,99 (s, 1H), 4,90 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H), 7,37 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,79 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 25,0, 25,33, 70,53, 83,95, 124,83, 135,20, 149,16.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 30,87.

IV-TF (KBr): ν_{max} = 3330, 2978, 1516, 1362, 1323, 1144, 1093, 859, 661 cm^{-1}.

CG-EM [*m/z* (%)] = 248(7) [M^+], 233(100), 165(35), 149(67), 133(28), 101(24), 84(28).

EMAR [ESI (+)]: Calculado para $C_{14}H_{21}BO_3Na$ $[M + Na]^+$: 271,1481; encontrado: 271,1474.

1-[3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]etanol (65b)

Obtido como um óleo incolor, com 98% de rendimento (972 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CHCl_3$) δ = 1,34 (s, 12H), 1,49 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 2,00 (br, 1H), 4,91 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H), 7,36 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,49 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,72 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H) 7,92 (s, 1H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 25,00, 25,30, 70,47, 83,98, 128,10, 128,48, 131,93, 134,07, 145,30.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 30,91.

IV-TF (filme) ν_{max} = 3232, 2978, 1358, 1200, 1144, 864, 710 cm^{-1}.

CG-EM [*m/z* (%)] = 248(6) [M^+], 233(100), 165(31), 149(39), 133(27), 101(27), 84(24).

EMAR [ESI (+)]: Calculado para $C_{14}H_{21}BO_3Na$ $[M + Na]^+$: 271,1481, encontrado: 271,1472.

1-[4-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)fenil]etanol (65c)

Obtido como um sólido branco (p.f.: 61,2 – 63,5 °C), com 48% de rendimento (449 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,01 (s, 6H), 1,47 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 2,01 (br, 1H), 3,75 (s, 4H), 4,88 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H), 7,34 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 7,78 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 22,07, 25,27, 32,05, 70,61, 72,48, 124,75, 134,31, 148,50.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 26,79.

IV-TF (KBr): ν_{max} = 3289, 2974, 1609, 1479, 1425, 1316, 1249, 1133, 1091, 834, 647 cm^{-1}.

CG-EM [*m/z* (%)] = 234(10) [M^+], 219(100), 133(15), 104(52), 91(29), 77(13), 69(56).

EMAR [ESI (+)]: Calculado para $C_{13}H_{19}BO_3Na$ $[M + Na]^+$: 257,1325; encontrado: 257,1319

1-[3-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)fenil]etanol (65d)

Obtido como um sólido branco (p.f.: 88,0 – 89,0 °C), com 54% de rendimento (505 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CHCl_3$) δ = 1,01 (s, 6H), 1,49 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 2,02 (s, 1H), 3,76 (s, 4H), 4,88 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H), 7,29 – 7,49 (m, 2H), 7,68 – 7,78 (m, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 22,07, 25,26, 32,04, 70,72, 72,48, 127,94, 128,00, 131,02, 133,23, 145,05.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 26,78.

IV-TF (KBr) ν_{max} = 3409, 2971, 1601, 1485, 1428, 1310, 1251, 1195, 1129, 1086, 1007, 813, 711 cm^{-1}.

CG-EM [*m/z* (%)] = 234(3) [M^+], 219(38), 133(23), 104(65), 91(37), 77(20), 69(70).

EMAR [ESI (+)]: Calculado para $C_{13}H_{19}BO_3Na$ $[M + Na]^+$: 257,1325; encontrado: 257,1319.

1-(5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)tiofen-2-il)etanol (65i)

Obtido como um óleo incolor, com 88% de rendimento (671 mg).

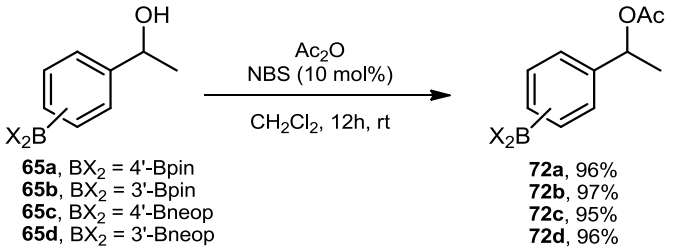
RMN de ^{1}H (200 MHz, $CHCl_3$) δ = 1,33 (s, 12H), 1,59 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 5,15 (m, 1H), 7,05 (dd, *J* = 3,6 e 0,8 Hz, 1H), 7,50 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H).

RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$): δ = 24,92, 25,59, 66,43, 84,27, 124,82, 137,36, 157,58.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 29,00.

EMAR [ESI (+)]: Calculado para $C_{12}H_{19}BO_3SNa$ $[M + Na]^+$: 277,1432; encontrado: 277,1435

8.2.3. *Procedimento geral para a reação de acetilação dos álcoois contendo boro* ***65a-d***[130]



Em um balão de 50 mL, duas bocas, seco e sob atmosfera de N_2 foram adicionados o álcool apropriado **65** (0,5 mmol), *N*-bromosuccinimida (50 μmol; 8,8 mg), diclorometano (3 mL) e o anidrido acético (1 mmol; 100 μL). A mistura reacional foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 12 h. Após este período, foi adicionado diclorometano (10 mL) e a solução resultante foi lavada com água (2 x 2 mL) e uma solução aquosa a 5% de $NaHCO_3$ (1 x 2 mL). A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ anidro, e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando hexano e acetato de etila (9:1) como eluente.

Etanoato de 1-[4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]etila (72a)

Obtido como um sólido branco (p.f.: 82,7 – 83,7 °C), com 96% de rendimento (139 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,33 (s, 12H), 1,52 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 2,07 (s, 3H), 5,88 (q, *J* = 6,6 Hz,1H), 7,35 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 7,80 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 21,46, 22,36, 25,00, 72,43, 83,96, 125,48, 135,19, 144,93, 170,42.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 30,81.

IV-TF (KBr) ν_{max} = 2984, 1750, 1359, 1233, 1140, 1090, 1019, 855, 654 cm^{-1}.

CG-EM [*m/z* (%)] = 290(2) [M^+], 275(2), 248(17), 231(5), 215(7), 165(15), 144(46), 131(56), 105(18), 83(42), 58(37), 42(100).

EMAR [ESI (+)]: Calculado para $C_{16}H_{23}BO_4Na$ $[M + Na]^+$: 313,1587; encontrado: 313,1578.

Etanoato de 1-[3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]etila (72b)

Obtido como um óleo incolor, com 97% de rendimento (140 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,34 (s, 12H), 1,53 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 2,06 (s, 3H), 5,89 (q, *J* = 6,6 Hz, 1H), 7,31 – 7,48 (m, 2H), 7,71 – 7,80 (m, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 21,54, 22,37, 25,06, 72,60, 84,04, 128,07, 129,23, 132,58, 134,57, 141,11, 170,50.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 30,81.

IV-TF (filme): ν_{max} = 2980, 1742, 1371, 1241, 1145, 709 cm^{-1}.

CG-EM [*m/z* (%)] = 290(24) [M^+], 275(16), 248(96), 231(41), 215(39), 204(20), 190(19), 165(37), 144(82), 131(100), 105(36), 84(40).

EMAR [ESI (+)]: Calculado para $C_{16}H_{23}BO_4Na$ $[M + Na]^+$: 313,1587; encontrado: 313,1579.

Etanoato de 1-[4-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)fenil]etila (72c)

Obtido como um óleo incolor, com 92% de rendimento (126 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,00 (s, 6H), 1,52 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 2,06 (s, 3H), 3,75 (s, 4H), 5,88 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H), 7,33 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,78 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 21,17, 21,71, 22,02, 31,71, 72,14, 125,05, 133,94, 143,91, 170,13.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 26,66.

IV-TF (filme): ν_{max} = 2958, 1735, 1613, 1478, 1422, 1247, 1135, 1068, 1021, 948, 831, 706, 643 cm^{-1}.

CG-EM [*m/z* (%)] = 276(12) [M^+], 261(2), 234(57); 216(74), 173(15), 146(17), 130(86), 117(15), 104(64), 77(16), 56(84).

EMAR [ESI (+)]: Calculado para $C_{15}H_{21}BO_4Na$ $[M + Na]^+$: 299,1430; found: 299,1428.

Etanoato de 1-[3-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)fenil]etila (72d)

Obtido como um óleo incolor, com 89% de rendimento (123 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,02 (s, 6H), 1,54 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 2,06 (s, 3H), 3,76 (s, 4H), 5,89 (q, *J* = 6,6 Hz, 1H), 7,29 – 7,45 (m, 2H), 7,70 – 7,82 (m, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 21,58, 22,10, 22,36, 32,05, 72,49, 72,72, 127,94, 128,71, 131,75, 133,67, 140,86, 170,53.

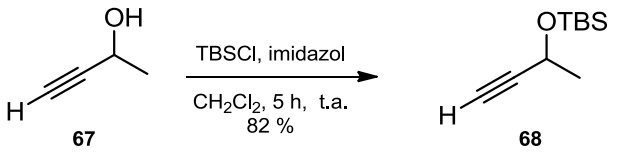
RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 26,83.

IV-TF (filme) ν_{max} = 2963, 1732, 1605, 1478, 1432, 1376, 1318, 1242, 1200, 1133, 1066, 944, 804, 710 cm^{-1}.

CG-EM [*m/z* (%)] = 274(2) $[M]^+$, 261(2), 233(87), 216(100), 173(18), 146(19), 130(72), 117(13), 104(42), 91(6), 77(9), 56(21).

EMAR [ESI (+)]: Calculado para $C_{15}H_{21}BO_4Na$ $[M + Na]^+$: 299,1430; encontrado: 299,1429.

8.2.4. *Síntese do 3-terc-butil-dimetilsililoxi-1-butino (**68**)*[186]



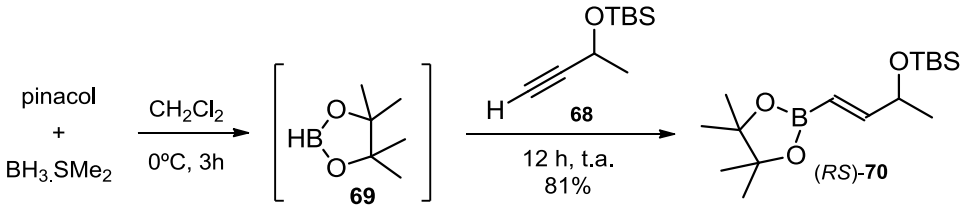
Em um balão de 50 mL de duas bocas, seco e sob atmosfera de N_2, foi adicionado CH_2Cl_2 anidro (20 mL) e o álcool propargílico **67** (10 mmol; 700 mg; 0,78 mL). O sistema foi resfriado a 0°C, e imidazol (11 mmol; 749 mg) foi adicionado em uma só porção, seguido da adição de cloreto de *terc*-butil-dimetilsilano (11 mmol; 1,65 g). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética a t.a. por 5 horas. Após este período, foi adicionada água (5 mL), e a solução foi agitada por 5 minutos. Após a fase orgânica foi extraída com hexano (4x 15 mL), seca com $MgSO_4$ anidro e solvente removido sob pressão reduzida. O produto **68** foi obtido como um óleo incolor, com 82% (1,509 g) de rendimento após purificação por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano como eluente.

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CHCl_3$) δ = 0,08 (s, 3H), 0,12 (s, 3H), 0,9 (s, 9H); 1,44 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 2,38 (d, *J* = 2,0 Hz , 1H), 4,52 (qd, *J* = 6,6 e 2,0 Hz, 1H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = -4,3, -3,2, 18,3, 25,6, 58,8, 70,9, 86,3.

CG-EM [*m/z* (%)] = 184(0.3) $[M]^+$, 169(3), 125(87), 113(5), 101(27), 83(100).

*8.2.5. Síntese do (E)-2-(3-t-butildimetilsililoxi-1-butenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (**70**)*[127,187]



Um balão de 50 mL de duas bocas, seco e sob atmosfera de N_2, foi adicionado pinacol (6,25 mmol, 799 mg) e CH_2Cl_2 anidro (2 mL). A solução resultante foi resfriada a 0 °C, e após foi adicionado lentamente uma solução de $BH_3.SMe_2$ em Et_2O (5M, 6,25 mmol, 1,25 mL). A solução resultante foi mantida sob agitação magnética por 3 h a 0°C. Após este período, o álcool propargílico protegido **68** foi adicionado lentamente, e após a adição, o sistema foi levado a t.a. e mantido sob agitação por mais 12 h. Após este tempo foi adicionado Et_2O (20 mL) seguido da adição de uma solução saturada de NH_4Cl (4 mL). A fase orgânica foi separada, e a fase aquosa extraída com Et_2O (2 x 10 mL). As fases orgânicas foram combinadas e lavadas com uma solução saturada de NH_4Cl (2 x 4 mL) e

uma solução saturada de NaCl (4 mL). A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ anidro e solvente removido sob pressão reduzida. O produto final **70** foi obtido como óleo incolor com 81% (1,263 g) de rendimento após purificação por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano e acetato de etila (8:2) como eluente.

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 0,05 (s, 9H), 0,90 (s, 9H), 1,21 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 1,27 (s, 12H), 4.27 (m, 1H), 5,57 (dd, *J* = 18,0 e 1,8 Hz, 1H), 6,55 (dd, *J* = 18,0 e 3,8 Hz, 1H).

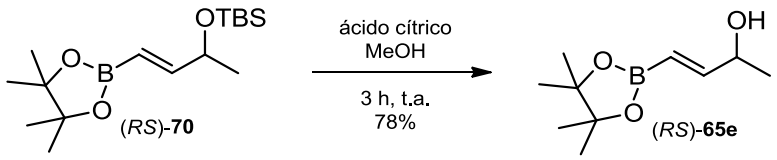
RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = -4,63, -4,48, 18,49, 23,09, 24,95, 25,01, 26,12, 70,06, 83,31, 157,22.

IV-TF (filme) ν_{max} = 2930, 28,57, 1642, 1369, 1337, 1254, 1146, 835, 775 cm^{-1}.

CG-EM [*m/z* (%)] = 297(2) [M$^+$- CH3], 255(30), 197(2), 155(100); 113(64), 75(92).

EMAR [ESI (+)]: Calculado para $C_{16}H_{33}BO_3SiNa$ [M + Na]$^+$: 335,2189; encontrado: 335.2193.

*8.2.6. Síntese do (E)-2-(3-hidroxi-1-butenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano [(RS)-**65e**]*[129]



Em um balão de 25 mL, contendo uma solução do composto **70** (2 mmol; 622 mg) em MeOH anidro (2 mL) foi adicionado ácido cítrico (2 mmol; 420 mg) e solução resultante foi mantida sob agitação magnética por 3 horas. Após, foi adicionado acetato de etila (5 mL), e a fase orgânica lavada com água (2 x 1 mL) e seca com $MgSO_4$ anidro. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o produto final **65e** foi obtido como óleo incolor com 79% (309 mg) de rendimento após purificação por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano e acetato de etila (8:2) como eluente.

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,24 (d, *J* = 5,6 Hz, 3H); 1.28 (s, 12H), 2,29 (br, 1H), 4,33 (m, 1H), 6,61 (dd, *J* = 18,0 e 1,8 Hz, 1H), 6,65 (dd, *J* = 18,0 e 3,8 Hz, 1H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 22,77, 24,89, 69,68, 83,48, 156,46.

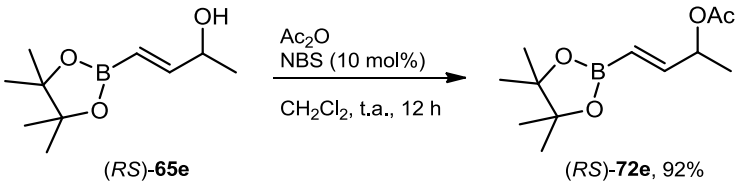
RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 29,97.

IV-TF (filme): ν_{max} = 3438, 2978, 1644, 1361, 1326, 970, 849 cm^{-1}.

LRMS [*m/z* (%)] = 183(22) [M$^+$- CH3], 155(4), 141(10), 98(100), 83(41), 55(80).

EMAR [ESI (+)]: Calculado para $C_{10}H_{19}BO_3Na$ [M + Na]$^+$: 221.1325; encontrado: 221.1315.

*8.2.7. Síntese do (E)-2-(3-acetil-1-butenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano [(RS)-**72e**]*



Para a obtenção do composto (*RS*)-**72e** foi utilizado o mesmo procedimento descrito no item 8.2.3. a parir do substrato (*RS*)-**65e** (0,5 mmol, 99 mg). Após purificação por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano e acetato de etila (9:1) como eluente, o produto acetilado (*RS*)-**72e** foi obtido como um óleo incolor com 92% (109 mg) de rendimento.

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,27 (s, 12H), 1,32 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 2,06 (s, 3H), 5,39 (m, 1H), 5,58 (dd, *J* = 18,0 e 1,8Hz, 1H), 6,55 (dd, *J* = 18,0 e 4,8Hz, 1H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 19,75, 21,34, 24,92, 71,43, 83,57, 151,38, 170,38.

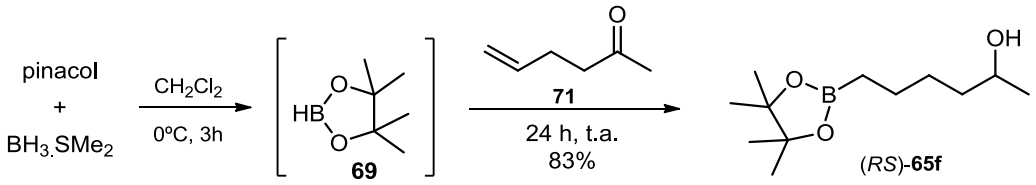
RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 29,84.

IV-TF (filme) ν_{max} = 2980, 1741, 1645, 1371, 1333, 1238, 1146, 850 cm^{-1}.

CG-EM [*m/z* (%)] = 225(2) [M^{+}- CH3], 197(8), 140(27), 97(19), 83(20).

EMAR [ESI (+)]: Calculado para $C_{12}H_{21}BO_4Na$ $[M + Na]^{+}$: 263.1430; encontrado: 263.1420.

*8.2.8. Síntese do 6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)hexan-2-ol [(RS)-**65f**]*



Um balão de 50 mL de duas bocas, seco e sob atmosfera de N_2, foi adicionado pinacol (15 mmol, 1,772 g) e CH_2Cl_2 anidro (10 mL). A solução resultante foi resfriada a 0 °C, e após foi adicionado lentamente uma solução de $BH_3.SMe_2$ em Et_2O (5M, 15 mmol, 3 mL). A solução resultante foi mantida sob agitação magnética por 3 h a 0°C. Após este período, a 5-hexen-2-ona **71** (5 mmol, 294 mg, 345 μL) foi adicionada lentamente, e após a adição, o sistema foi levado a t.a. e mantido sob agitação por mais 24 h. Após este tempo foi adicionado Et_2O (20 mL) seguido da adição de uma solução saturada de NH_4Cl (4 mL). A fase orgânica foi separada, e a fase aquosa extraída com Et_2O (2 x 10 mL). As fases orgânicas foram combinadas e lavadas com uma solução saturada de NH_4Cl (2 x 4 mL) e uma solução saturada de NaCl (4 mL). A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ anidro e solvente removido sob pressão reduzida. O produto final **65f** foi obtido como óleo incolor

com 83% (947 mg) de rendimento após purificação por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano e acetato de etila (8:2) como eluente.

RMN de ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ = 0,79 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 1,17 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H), 1,24 (s, 12H), 1,34 – 1,48 (m, 6H), 1,86 (br, 1H), 3,79 (sext, *J* = 6,2 Hz, 1H).

RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$): δ = 23,49, 23,94, 24,71, 28,50, 39,17, 67,97, 83,07.

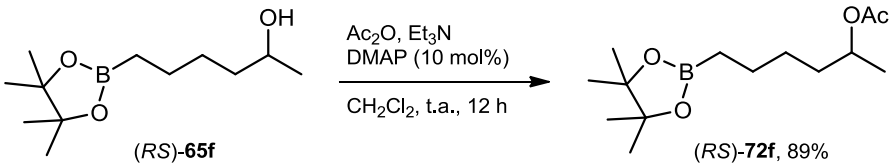
RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 35,15.

FT-IR (filme) ν_{max} = 3442, 2977, 2931, 1463, 1373, 1320, 1146, 967, 847 cm^{-1}.

CG-EM [*m/z* (%)] = 213(0,2) [M^+- CH3], 195(0,9), 169(14), 154(10), 127(44), 101(27), 83(36), 58(100).

EMAR [ESI (+)]: Calculado para $C_{12}H_{25}BO_3Na$ [M + Na]$^+$: 251.1794; encontrado: 251.1792.

*8.2.9. Síntese do acetato de 6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)hexan-2-ila [(RS)-**72f**]*



Em um balão de 25 mL de duas bocas, seco e sob atmosfera de N_2 foram adicionados o composto (*RS*)-**65f** (0,5 mmol; 124 mg), CH_2Cl_2 anidro (1 mL), Et_3N (0,75 mmol; 210 µL), DMAP (0,05 mmol; 6 mg) e por fim Ac_2O (1 mmol; 100 µL). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética a t.a. por 12 horas. Após este período foi adicionado CH_2Cl_2 (5 mL) e a fase orgânica foi lavada com uma solução aquosa de HCl 1 M (2 x 1mL) seguido de uma solução saturada de $NaHCO_3$ (1mL) e por fim solução saturada de NaCl (1 mL). A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ anidro e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O composto (*RS*)-**72f** foi obtido como um óleo incolor com 89% (120 mg) de rendimento após purificação por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano e acetato de etila (9:1) como eluente.

RMN de ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ = 0,77 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 1,19 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H), 1,24 (s, 12H), 1,28 – 1,61 (m, 6H), 2,01 (s, 3H), 4,88 (sext, *J* = 6,2 Hz, 1H).

RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$): δ = 20,10, 21,54, 24,03, 24,98, 28,20, 35,87, 71,21, 83,06, 170,91.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 34,07.

IV-TF (filme) ν_{max} = 2978, 2934, 1737, 1373, 1320, 1244, 1146, 968, 847 cm^{-1}.

CG-EM [*m/z* (%)] = 255(2) [M^+- CH3], 212(17), 169(52), 153(21), 129(42), 101(28), 87(46), 83(42), 69(28).

EMAR [ESI (+)]: Calculado pra $C_{14}H_{27}BO_4Na$ $[M + Na]^+$: 293,1900; encontrado: 293,1902.

*8.2.10. Síntese do pentabenzilciclopentadieno (**74**)*[135]

Em um balão de 250 mL de três bocas, equipado com um funil de adição e um aparelho de Dean-Stark conectado a um condensador de refluxo e sob atmosfera de N_2, foi adicionado o álcool benzílico (1,38 mol, 143 mL) e sódio metálico (165 mmol, 3,8 g). A mistura foi aquecida lentamente até 120 °C sob forte agitação, até todo o sódio ser consumido (aproximadamente 60 minutos). Após esta etapa, a temperatura reacional foi levada até 160-170 °C, e o diciclopentadieno (56 mmol, 7,6 mL) foi adicionado lentamente através do funil de adição. A mistura reacional foi então refluxada por mais 15 horas sob agitação. Após este período, a agitação foi cessada e o refluxo mantido por mais 24 horas. A temperatura ambiente, o álcool benzílico restante foi removido sob pressão reduzida e aquecimento. O resíduo resultante foi tratado com uma solução aquosa de HCl (5%) até a dissolução do resíduo sólido. A fase orgânica foi separada e o álcool benzílico restante foi removido sob pressão reduzida. O óleo amarelado resultante foi resfriado e extraído com hexano a quente (4 x 20 mL). Os extratos de hexano foram combinados e armazenados a -20 °C por 12 horas resultando na formação de uma camada de óleo. A solução de hexano foi decantada em outro frasco, e novamente resfriada e mantida a -20 °C durante 72 horas levando a formação de um sólido cristalino. O processo de recristalização foi repetido (3 vezes) para a camada de óleo formada até não haver mais a formação de sólidos cristalinos. Os sólidos cristalinos foram combinados e secos sob vácuo (12 horas). O pentabenzilciclopentadieno **74** foi obtido como um sólido branco (p.f.: 72,1 – 73,2 °C), com 65% (72,8 mmol, 37,6 g) de rendimento.

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 3,08 (d, *J* = 5,0 Hz, 2H), 3.21 (t, *J* = 5.0 Hz, 1H), 3,45 (s, 4H), 3.56 (d, *J* = 15.6 Hz, 2H), 3.85 (d, *J* = 15.6 Hz, 2H), 6,61 – 7,34 (m, 25H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ = 31,83, 33,42, 34,31, 52,78, 125,75, 125,96, 126,33, 128,23, 128,30, 128,41, 128,56, 128,68, 129,15, 130,39, 133,93, 138,68, 140,13, 141,41, 142,98.

8.2.11. *Síntese do complexo de rutênio η^5-$Bn_5CpRu(CO)_2Cl$ (**73**)*[134]

Em um balão de 50 mL de uma boca, seco e sob atmosfera de N_2, foram adicionados o pentabenzilciclopentadieno **74** (0,6 mmol, 310 mg), o $Ru(CO)_{12}$ (0,2 mmol, 128 mg), decano (6 mL) e tolueno (3 mL). O franco foi fechado com uma tampa de vidro, e o sistema aquecido em banho de areia a 160 °C por 72 h. Após este período, o sistema foi resfriado a t.a. e aberto. Clorofórmio (1 mL) foi adicionado e o sistema foi aquecido a 150 °C por 2 h. Após o sistema ser resfriado a t.a. a mistura foi concentrada sob vácuo e o resíduo purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando uma mistura de hexano e acetato de etila (98:2) como eluente. O complexo de rutênio **73** foi obtido como um sólido cristalino amarelo com 48% de rendimento.

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 3,56 (s, 10H), 6,88 (dd, *J* = 6,3 e 2.8 Hz, 10H), 7,19 – 7,05 (m, 15H)

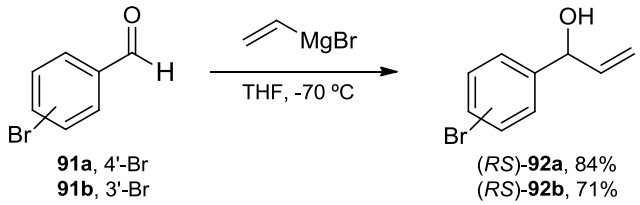
RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ = 30,91, 105,44, 126,89, 128,64, 128,74, 138,09, 197,29.

EMAR [ESI (+)]: calculado para $C_{42}H_{37}RuClO_2Na$ $[M + Na]^+$: 731,1278, encontrado: 731,1270; calculado para $C_{42}H_{37}RuO_2$ $[M - Cl]^+$: 673,1692, encontrado: 673,1692.

*8.2.12. Avaliação da atividade de racemização dos complexos de rutênio **64** e **73**.*

Em um frasco de Schlenk de 25 mL, seco, e sob atmosfera de N_2, foi adicionado tolueno anidro o complexo de rutênio (5 μmol) e uma solução de KO^tBu 1M em THF (6 μmol). A mistura foi mantida sob agitação magnética a 30 ºC por 6 minutos. Após este período foi adicionado o álcool (*S*)-**65a** (ee >99%) e a mistura reacional foi mantida sob agitação por 30 minutos. Após este período a solução foi filtrada em celite e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O composto **65a** foi analisado por CLAE quiral no qual foi observado um ee 0%.

*8.2.13. Síntese dos álcoois alílicos (RS)-**92a,b**.*[188]



Em um frasco graduado de 100 mL, contendo THF anidro (40 mL) e a -70 ºC foi borbulhado no solvente com o auxílio de uma agulha o brometo de vinília (80 mmol, 5,64 mL) até o volume final da solução alcançar 45,6 mL. A solução resultante foi adicionada lentamente via cânula a um balão de 250 mL, duas bocas, seco e equipado com um condensador de refluxo, contendo Mg (1,458 g, 60 mmol) e THF anidro (10 mL). A solução foi mantida sob refluxo brando até o consumo total do Mg (2 h).

Em um balão de 100 mL, duas bocas, seco e sob atmosfera de N_2, foi adicionado o 4- ou 3-bromobenzaldeído (**91a,b**, 20 mmol, 3,7 g) e THF anidro (20 mL). O sistema foi resfriado a 0 ºC e lentamente foi adicionada a solução preparada previamente contendo o reagente de Grignard (1,5 mol.L^{-1}, 22 mmol, 15 mL). A mistura reacional foi mantida a 0 ºC por 2 horas, e após, mais 10 horas a temperatura ambiente. Após, foi adicionado uma solução saturada de NH_4Cl (20 mL). A solução foi extraída com acetato de etila (3 x 20 mL) e a fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ anidro. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto final foi purificado por coluna cromatográfica de sílica gel utilizando hexano e acetato de etila (4:1) como eluente.

1-(4-bromofenil)prop-2-en-1-ol [(*RS*)-92a][188]

Obtido como óleo incolor, com 84% de rendimento (3,59 g).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$): δ = 2,06 (sl, 1H), 5,16 (m, 1H), 5,21 (d, *J* = 10,2 Hz, 1H), 5,34 (d, *J* = 17,1 Hz, 1 H), 6,02 (ddd, *J* = 17,1, 10,2 e 6 Hz, 1H), 7,25 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,45 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 74,80, 115,72, 121,57, 128,27, 131,62, 139,89, 141,80.

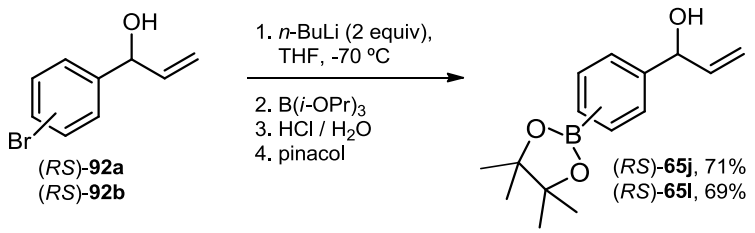
1-(3-bromofenil)prop-2-en-1-ol [(*RS*)-92b]

Obtido como um óleo incolor, com 71% de rendimento (3,02 g).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$): δ = 2,02 (sl, 1H), 5,15 (m, 1H), 5,21 (d, *J* = 10,2 Hz, 1H), 5,33 (d, *J* = 17,1 Hz, 1 H), 6,08 (ddd, *J* = 17,1, 10,2 e 6,1 Hz, 1H), 7,37 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,42 (dt, *J* = 7,7 e 1,7 Hz, 1H), 7,72 (dt, *J* = 7,7, e 1.3 Hz, 1H),7,77 (s, 1H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 72,80, 115,72, 122,57, 126,15 128,27, 131,62, 132,74, 139,89, 141,80.

*8.2.14. Síntese dos ésters pinacólicos dos ácidos (4 e 3-(1-hidroxialil)fenil)borônicos [(RS)-**65j,l**].*



Em um balão de 100 mL, duas bocas, seco e sob atmosfera de N_2 foi adicionado o álcool alílico (*RS*)-**92a** ou (*RS*)-**92b** (115 mg, 5 mmol) e THF anidro (20 mL). O sistema foi resfriado a -70 ºC e *n*-BuLi (10 mmol) foi adicionado lentamente. O sistema foi deixado sob agitação a -70 ºC durante 30 minutos. Após este período, B(O*i*-Pr)$_3$ (1,880g, 10 mmol) foi adicionado a mistura reacional foi mantida a -70 ºC por 1 hora e após, foi lentamente levada a temperatura ambiente. Uma solução aquosa de HCl 1 mol.L^{-1} (10 mL) foi adicionado lentamente e o sistema foi deixado sob agitação por 10 minutos. A fase orgânica foi separada, e a fase aquosa extraída com éter dietílico (3 x 10 mL). As fases orgânicas foram reunidas e secas com $MgSO_4$ anidro. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o sólido resultante foi solubilizado em THF (20 mL) e pinacol (1 equivalente referente a massa do produto bruto obtido) foi adicionado e o solvente evaporado. A adição de THF (20 mL) e posterior evaporação foi repetida mais três vezes, e ao final, o produto formado foi filtrado utilizando uma pequena coluna de sílica gel, utilizando uma mistura de hexano e acetato de etila (4:1) como eluente.

1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)prop-2-en-1-ol [(*RS*)-65j]

Obtido como um óleo incolor, com 71% de rendimento (923 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$): δ = 1,34 (s, 12 H), 1,99 (sl, 1H) 5,19 (d, *J* = 10,8 Hz, 2H), 5,34 (d, *J* = 17,1 Hz, 1 H), 6,03 (ddd, *J* = 17,1, 10,2 e 6 Hz, 1H), 7,38 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 7,80 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H),

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 25,05, 75,49, 84,01, 115,8, 125,78, 135,25, 140,31, 145,92.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 30,12.

EMAR [ESI (+)]: calculado para $C_{15}H_{21}BO_3Na$ $[M + Na]^+$: 283,1262, encontrado: 283,1265

1-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)prop-2-en-1-ol [(*RS*)-65l]

Obtido como um óleo incolor, com 69% de rendimento (897 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$): δ = 1,34 (s, 12 H), 2,14 (sl, 1H), 5,15-5,21 (m, 2H), 5,35 (dt, *J* = 17,0 e 1,4 Hz, 1H), 6,06 (ddd, *J* = 17,0, 10,2 e 6Hz, 1 H), 7,37 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,49 (dt, *J* = 7,7 e 1,7 Hz, 1H), 7,74 (dt, *J* = 7,7, e 1.3 Hz, 1H),7,79 (s, 1H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 25,03, 75,48, 84,02, 115,17, 128,17, 129,46, 132,85, 134,38, 140,49, 142,21.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 30,14.

EMAR [ESI(+)]: calculado para $C_{15}H_{21}BO_3Na$ $[M + Na]^+$: 283,1262, encontrado: 283,1263

*8.2.15. Procedimento geral para a reação de oxidação dos álcoois contendo boro **65e,f,j**, e **65l***

Em um balão de 50 mL de duas bocas, seco e sob atmosfera de N_2 foi adicionado o álcool apropriado (2 mmol) e diclorometano anidro (10 mL). O sistema foi resfriado a 0 ºC e PDC (1,128 g, 3 mmol) foi adicionado em uma só porção. A reação foi acompanhada por CCD até o consumo do reagente de partida. Ao final da reação, foi adicionado éter dietílico (10 mL) e a mistura filtrada em celite. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o produto final foi purificado por coluna cromatográfica de sílica gel utilizando hexano e acetato de etila (4:1) como eluente

(*E*)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)but-3-en-2-ona (59e)

Obtido como um óleo incolor, com 38% (149 mg) de rendimento.

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$): δ = 1,30 (s, 12H), 2,30 (s, 3H), 6.54 (d, *J* = 18.6 Hz, 1H), 6.81 (d, *J* = 18.6 Hz, 1H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 28,87, 26,78, 84,25, 146,60, 199,04.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 30,00

EMAR [ESI (+)]: calculado para $C_{10}H_{17}BO_3Na$ $[M + Na]^+$: 219,1168, encontrado: 219,1163.

6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)hexan-2-ona (59f)

Obtido como um óleo incolor, com 20% (90 mg) de rendimento.

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$): δ = 0,78 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 1,24 (s, 12 H), 1,32-1,62 (m, 4 H), 2,12 (s, 3H), 2,41 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 23,90, 25,07, 26,75, 30,03, 43,95, 83,23, 209,57.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 34,12

EMAR [ESI (+)]: calculado para $C_{12}H_{23}BO_3Na$ $[M + Na]^+$: 249,1638, encontrado: 249,1635

1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)prop-2-en-1-ona (59j)

Obtido como um óleo amarelado, com 45% (232 mg) de rendimento.

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$): δ = 1,36 (s, 12H), 5,94 (dd, *J* = 10,6; 1,7 Hz, 1H), 6.43 (dd, *J* = 17,2, e 1,7 Hz, 1H), 7.11 (d, *J* = 12 Hz, 1H), 7,19 (d, *J* = 10 Hz, 1H), 7,91 (s, 4H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 25,11, 84,44, 127,89, 130,48, 132,81, 135,15, 139,52, 192,79.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 30,14

EMAR [ESI (+)]: calculado para $C_{15}H_{19}BO_3Na$ $[M + Na]^+$: 281,1325, encontrado: 281,1367.

1-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)prop-2-en-1-ona (59l)

Obtido como um óleo amarelado, com 47% (243 mg) de rendimento.

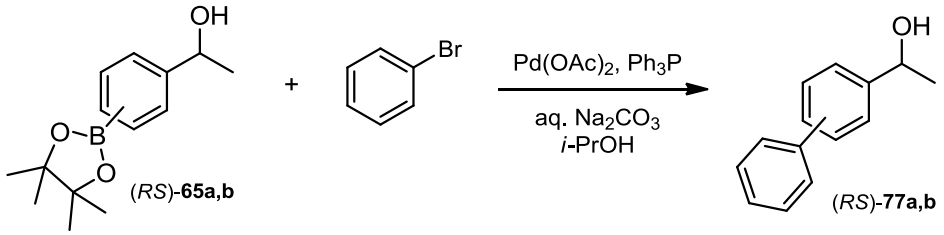
RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$): δ = 1,36 (s, 12H), 5,92 (dd, *J* = 10,5, e 1,8 Hz, 1H), 6,44 (dd, *J* = 17,1, e 1,8 Hz, 1H), 7,23 (dd, *J* = 17,1 e 10,5 Hz, 1H), 7,48 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,95-8,13 (m, 2H), 8,36 (s, 1H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 25,07, 84,33, 128,28, 130,15, 131,50, 132,72, 135,13, 136,92, 139,43, 191,23.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 30,17

EMAR [ESI (+)]: calculado para $C_{15}H_{19}BO_3Na$ $[M + Na]^+$: 281,1325, encontrado: 281,1368.

*8.2.16. Procedimento geral para a obtenção dos bifeniletanóis **77a,b** através de reações de acoplamento do tipo Suzuki-Miyaura.*[141]



Em um balão de 10 mL de duas bocas, equipado com condensador de refluxo e sob atmosfera de N_2, foram adicionados o álcool **65a** ou **65b** (1 mmol; 248 mg), bromobenzeno (1 mmol; 157 mg; 104 μL) e 2-propanol (4 mL). A mistura foi agitada por 15 minutos para a dissolução dos reagentes, e após foram adicionados o $Pd(OAc)_2$ (10 μmol; 2,2 mg), Ph_3P (20 μmol; 5,2 mg), uma solução aquosa de Na_2CO_3 (2 M, 0,64 mL) e água (0,4 mL) previamente desaeradas. A solução resultante foi mantida sob refluxo por 2,5 horas e após este tempo a reação foi levada a t.a. e o sistema foi exposto ao ar por 10 minutos. O meio reacional foi diluído com de acetato de etila (10 mL). A fase aquosa foi separada da fase

orgânica e lavada com acetato de etila (4 x 2 mL). As fases orgânicas foram combinadas e lavadas com uma solução aquosa de Na_2CO_3 a 5% (3 x 4 mL) e uma solução saturada de NaCl (2 x 4 mL). A fase orgânica foi transferida para um frasco de Erlenmeyer contendo $MgSO_4$ e uma pequena quantidade de carvão ativo, permanecendo sob agitação por 20 minutos. Após a filtração o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o produto purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando clorofórmio e metanol (98:2) como eluente.

(*RS*)-1-(bifenil-4-il)etanol (77a)[141]

Obtido como um sólido branco (p.f.: 96,5 – 97,5 °C) com 83% de rendimento (164 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,52 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 1,97 (br, 1H), 4,93 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H), 7,33 – 7,62 (m, 9H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 25,35, 70,35, 126,05, 127,28, 127,47, 128,97, 137,71, 140,65, 141,06, 145,02.

CG-EM [*m/z* (%)] = 198(47) [M^+], 183(79), 180(48), 155(100), 152(36), 91(18), 77(40).

(*RS*)-1-(bifenil-3-il)etanol (77b)[189]

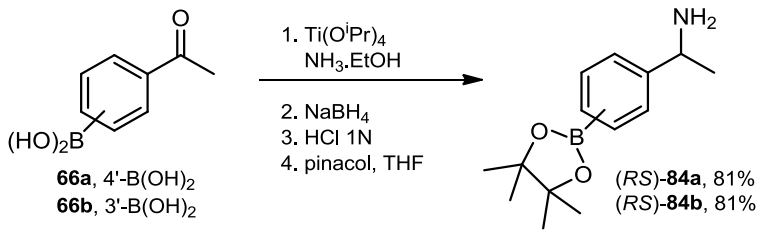
Obtido como um óleo incolor com 79% de rendimento (156 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,49 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 2,29 (br, 1H), 4,89 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H), 7,27 – 7,60 (m, 9H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 25,38, 70,55, 112,17, 124,42, 126,40, 127,33, 127,50, 128,92, 129,07, 141,26, 141,59, 146,52.

CG-EM [*m/z* (%)] = 198(50) [M^+], 183(42), 155(100), 152(23), 91(16), 77(22).

*8.2.17. Procedimento geral para síntese dos ésteres pinacólicos dos ácidos 4- e 3-(1-aminoetil)fenilborônicos, (RS)-**84a,b***



Em um balão de 50 mL de duas bocas, seco e sob atmosfera de N_2 e agitação magnética, foi adicionada o ácido borônico **66a** ou **66b** (656 mg, 4 mmol), Ti(O*i*-Pr)$_4$ (2,2 mL, 8 mmol) e uma solução etanólica de amônia (4M, 5 mL, 20 mmol). O sistema foi fechado, e a mistura reacional foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 6 horas.

Após este período, o sistema foi aberto e foi adicionado aos poucos $NaBH_4$ (227 mg, 6 mmol) e a mistura permaneceu por mais 3 horas sob agitação. Para a extração foi adicionado lentamente uma solução aquosa de HCl 1mol.L^{-1} até o pH da solução tornar-se igual a 1 (20 mL). A solução foi extraída com éter dietílico (8 x 10 mL) e a fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ anidro. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o sólido resultante foi solubilizado em THF (20 mL) e pinacol (1 equivalente referente a massa do produto bruto obtido) foi adicionado e o solvente evaporado. A adição de THF (20 mL) e posterior evaporação foram repetidas mais três vezes, e ao final, o produto formado foi filtrado utilizando uma pequena coluna de sílica gel, utilizando uma mistura de hexano e acetato de etila (6:4) como eluente.

1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etanamina, (*RS*)-84a

Obtido como um sólido branco (p.f.: 66,8 – 67,7 °C), com 81% de rendimento (801 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,34 (s, 12 H), 1,47 (d, *J* = 6,4 Hz, 3 H), 4,90 (q, *J* = 6,4 Hz, 1 H), 7,37 (d, *J* = 7,6 Hz, 2 H), 7,79 (d, *J* = 7,6 Hz, 2 H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ = 25,01, 25,36, 70,50, 83,96, 124,86, 135,22, 149,23.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 30,99.

IV-TF (KBr): ν_{max} = 3326, 2976, 2930, 1613, 1267, 1213, 1144, 1092, 1019, 1005, 962, 897, 859, 660 cm^{-1}.

EMAR [ESI (+)]: calculado para $C_{14}H_{20}BO_2$ $[M-NH_2]^+$: 231,1551, encontrado 231.1550; calculado para $C_{14}H_{23}BNO_2$ $[M+H]^+$: 248,1822, encontrado: 248.1824.

1-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etanamina, (*RS*)-84b

Obtido como um óleo incolor, com 81% de rendimento (801 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,34 (s, 12 H), 1,49 (d, *J* = 6,4 Hz, 3 H), 4,90 (q, *J* = 6,4 Hz, 1 H), 7,35 (t, *J* = 7,4 Hz, 1 H), 7,49 (dt, *J* = 7,4 e 1,4 Hz, 1 H), 7,71 (dt, *J* = 7,4 e 1,4 Hz, 1 H), 7,78 (s, 1H).

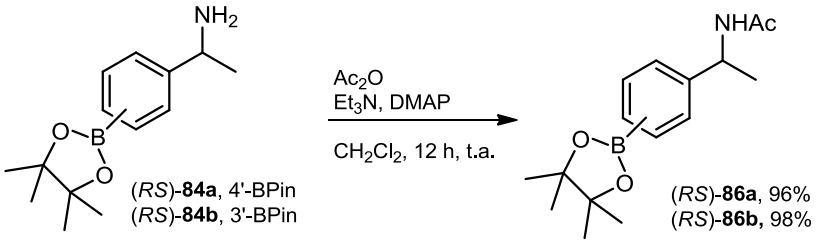
RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ = 24,95, 25,29, 70,40, 83,95, 128,06, 128,47, 131,90, 134,01, 145,28.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 30,94.

IV-TF (filme) ν_{max} = 3430, 2977, 2930, 1606, 1487, 1429, 1358, 1144, 1077, 964, 664, 710 cm^{-1}.

EMAR [ESI (+)]: calculado para $C_{14}H_{20}BO_2$ $[M-NH_2]^+$: 231,1551, encontrado 231.1552; calculado para $C_{14}H_{23}BNO_2$ $[M+H]^+$: 248,1822, encontrado: 248,1823.

*8.2.18. Procedimento geral para a reação de acetilação das aminas (RS)-**84a,b***



Em um balão de 25 mL de duas bocas, seco e sob atmosfera de N_2 foram adicionados a amina contendo boro (*RS*)-**84a** ou (*RS*)-**84b** (0,5 mmol; 123,5 mg), CH_2Cl_2 anidro (2 mL), Et_3N (0,75 mmol; 210 µL), DMAP (0,05 mmol; 6 mg) e por fim Ac_2O (1 mmol; 100 µL). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética a t.a. por 12 horas. Após este período foi adicionado CH_2Cl_2 (5 mL) e a fase orgânica foi lavada com uma solução aquosa de HCl 1 M (2 x 1mL) seguido de uma solução saturada de $NaHCO_3$ (1mL) e por fim solução saturada de NaCl (1 mL). A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ anidro e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto final foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano e acetato de etila (9:1) como eluente.

***N*-(1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etil)acetamida, (*RS*)-84a**

Obtido como um sólido branco (p.f.: 59,8 – 60,9 °C), com 96% de rendimento (138 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,34 (s, 12 H), 1,52 (d, *J* = 6,6 Hz, 3 H), 2,07 (s, 3 H), 5,88 (q, *J* = 6,6 Hz, 1 H), 7,35 (d, *J* = 8,0 Hz, 2 H), 7,80 (d, *J* = 8,0 Hz, 2 H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ = 21,42, 22,34, 24,97, 72,39, 83,92, 125,43, 135,16, 144,92, 170,33.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 30,97.

IV-TF (KBr) ν_{max} = 3471, 2986, 2932, 1749, 1613, 1233, 1140, 1090, 855, 664 cm^{-1}.

EMAR [ESI (+)]: calculado para $C_{14}H_{20}BO_2$ [M - C_2H_4NO]$^+$: 231,1551, encontrado: 231,1550; calculado para $C_{16}H_{25}BNO_3$ [M + H]$^+$: 290,1927, found: 290,1925.

***N*-(1-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etil)acetamida, (*RS*)-84b**

Obtido como um óleo incolor, com 98% de rendimento (141 mg)

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,34 (s, 12H), 1,53 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 2,06 (s, 3H), 5,88 (q, *J* = 6,6 Hz, 3H), 7,39 (m, 2H), 7,75 (m, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ = 21,57, 22,42, 25,05, 72,61, 84,04, 128,10, 129,24, 132,59, 134,59, 141,13, 170,47.

RMN de ^{11}B (96 MHz, $CDCl_3$) δ = 30,98.

IV-TF (filme) ν_{max} = 2980, 2934, 1743, 1608, 1238, 1146, 964, 853, 709, 558 cm^{-1}.

EMAR [ESI (+)]: calculado para $C_{16}H_{25}BNO_3$ [M + H]$^+$: 290,1927, encontrado: 290,1924.

*8.2.19. Reação de bromo-desborilação dos compostos (RS)-**86a,b**.*

Em um balão de 25 mL de duas bocas, seco e sob atmosfera de N_2 foram adicionados acetonitrila anidra (2 mL), a amida (**86a** ou **86b**, 0,5 mmol, 145 mg), CuBr (0,5 mmol, 67,5 mg) e NBS (0,5 mmol, 90 mg). A temperatura reacional foi elevada a 80 ºC e mistura reacional foi mantida sob agitação por 12 horas. Após este período, a reação foi esfriada a t.a. e diluída com éter etílico (10 mL). A fase orgânica foi lavada com uma solução aquosa 1M de HCl (1 x 5 mL), com uma solução aquosa 1M de NaOH (1 x 5 mL) e por fim, uma solução aquosa saturada de NaCl (1 x 5 mL). A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ anidro e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto final foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano e acetato de etila (8:2) como eluente.

***N*-(1-(4-bromofenil)etil)acetamida (89a)**

Obtido como um sólido branco (p.f.: 101,5 – 103,2 °C), com 90% de rendimento (108 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,45 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H), 1,98 (s, 3H), 5,07 (quint, *J* = 6,9 Hz, 1H), 5,81 (sl, 1H), 7,18 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,45 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ = 21,77, 23,18, 48,37, 120,98, 127,95, 131,63, 142,50, 169,75.

***N*-(1-(3-bromofenil)etil)acetamida (89b)**

Obtido como um óleo incolor, com 89% de rendimento (107 mg).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) δ = 1,43 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,96 (s, 3H), 5,04 (quint, *J* = 7,0 Hz, 1H), 6,41 (sl, 1H), 7,20 (m, 2H), 7,37 (dt, *J* = 6,9 Hz, 2,0 Hz, 1H), 7,43 (s, 1H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ = 21,91, 23,14, 48,41, 122,60, 124,94, 129,13, 130,15, 130,19, 146,04, 169,66.

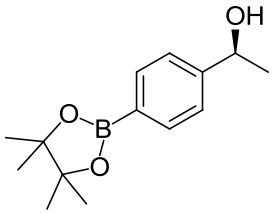
*8.2.20. Procedimento geral para a resolução cinética enzimática dos álcoois contendo boro (RS)-**65a-f** em pequena escala*

Em um frasco tipo penicilina de 25 mL, foi adicionado o álcool contendo boro apropriado (**65a-f**, 0,2 mmol), hexano (10 mL) e a CALB (20 mg) e for fim o acetato de vinila (0,6 mmol, 55 μL). A mistura reacional foi selada com uma tampa de borracha e agitada em um agitador orbital (30 ºC, 150 rpm). Após o período apropriado, a mistura reacional foi filtrada e a CALB lavada com acetato de etila (3 x 5 mL). O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e os produtos purificados por cromatografia em uma pequena coluna de sílica gel.

*8.2.21. Procedimento geral para a resolução cinética enzimática dos álcoois contendo boro (RS)-**65a-f** em escala preparativa*

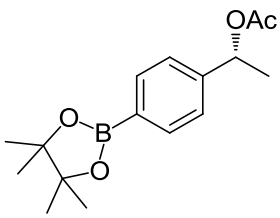
Em um frasco de Erlenmeyer de 250 mL, foi adicionado o álcool contendo boro apropriado (**65a-f**, 1,5 mmol), hexano (75 mL) e a CALB (150 mg) e for fim o acetato de vinila (4,5 mmol, 412 μL). A mistura reacional foi selada com uma tampa de borracha e agitada em um agitador orbital (30 ºC, 150 rpm). Após o período apropriado, a mistura reacional foi filtrada e a CALB lavada com acetato de etila (3 x 10 mL). O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e os produtos acetilados (*R*)-**72a-f** foram separados dos álcoois remanescentes (*S*)-**65a-f** por cromatografia em uma pequena coluna de sílica gel utilizando hexano e acetato de etila como eluente.

(*S*)-1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etanol, [(*S*)-65a]



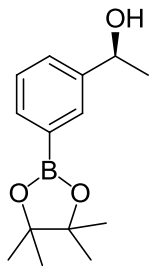
Rendimento: 161 mg (43%), ee >99%, $[\alpha]_D^{24}$ = -31,4 (*c* 1,0, $CHCl_3$).
Separação dos enantiômeros por CLAE: coluna Chiralcel® OJ-H, *n*-hexano/*i*-PrOH (95:5), 1.0 mL/min, detector UV, λ = 227 nm, t_R = 10,6 min. para o enantiômero (*R*) e t_R = 12.6 min. para o enantiômero (*S*).

Etanoato de (*R*)-1-[4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]etila, [(*R*)-72a]



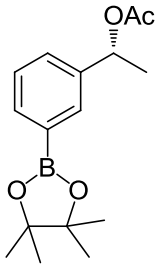
Rendimento: 186 mg (42.6%), ee >99%, $[\alpha]_D^{24}$ = +81,8 (*c* 1,0, $CHCl_3$).
Separação dos enantiômeros por CG: coluna capilar CP-CHIRASIL-DEX CB (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm), 150-180 ºC, 1 ºC/min, fluxo 100 kPa t_R = 18,1 min. para o enantiômero (*S*) e t_R = 18,7 min para o enantiômero (*R*).

(*S*)-1-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etanol, [(*S*)-65b]



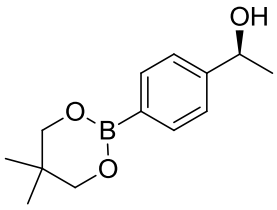
Rendimento: 159 mg (42%), ee >99%, $[\alpha]_D^{24}$ = -27,2 (*c* 1,14, $CHCl_3$).
Separação dos enantiômeros por CLAE: coluna Chiralcel® OJ-H, *n*-hexano/*i*-PrOH (95:5), 1.0 mL/min, detector UV, λ = 227 nm, t_R = 8,6 min. para o enantiômero (*S*) e t_R = 22.5 min. para o enantiômero (*R*).

Etanoato de (*R*)-1-[3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]etila, [(*R*)-72b]



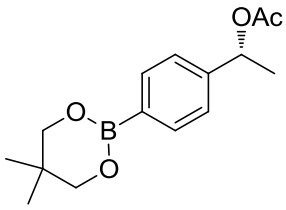
Rendimento: 186 mg (42.6%), ee >99%, $[\alpha]_D^{24}$ = +66,8 (*c* 1,0, $CHCl_3$).
Separação dos enantiômeros por CG: coluna capilar CP-CHIRASIL-DEX CB (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm), 150-180 ºC, 1 ºC/min, fluxo 100 kPa t_R = 14,2 min. para o enantiômero (*S*) e t_R = 14,8 min para o enantiômero (*R*).

(*S*)-1-[4-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)fenil]etanol, [(*S*)-65c]



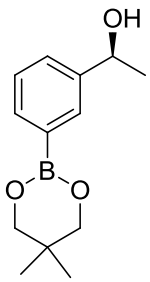
Rendimento: 137 mg (39%), ee >99%, $[\alpha]_D^{23}$ = -27,9 (*c* 1,0, $CHCl_3$).
Separação dos enantiômeros por CLAE: coluna Chiralcel® OJ-H, *n*-hexano/*i*-PrOH (95:5), 1.0 mL/min, detector UV, λ = 227 nm, t_R = 23,3 min. para o enantiômero (*S*) e t_R = 25.4 min. para o enantiômero (*R*).

Etanoato de (*R*)-1-[4-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)fenil]etila, [(*R*)-72c].



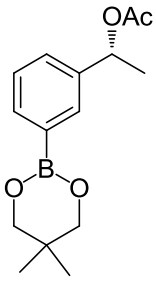
Rendimento: 174 mg (42%), ee >99%, $[\alpha]_D^{23}$ = +95,8 (*c* 1,0, $CHCl_3$).
Separação dos enantiômeros por CG: coluna capilar CP-CHIRASIL-DEX CB (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm), isoterma de 170 ºC, fluxo 100 kPa t_R = 17,2 min. para o enantiômero (*S*) e t_R = 17,9 min. para o enantiômero (*R*).

(*S*)-1-[3-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)fenil]etanol, [(*S*)-65d].



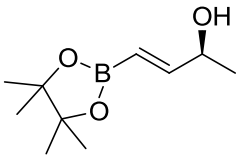
Rendimento: 123 mg (35%), ee >99%, $[\alpha]_D^{23}$ = -22,1 (*c* 1,0, $CHCl_3$).
Separação dos enantiômeros por CLAE: coluna Chiralcel® OJ-H, *n*-hexano/*i*-PrOH (95:5), 1.0 mL/min, detector UV, λ = 227 nm, t_R = 14,9 min. para o enantiômero (*S*) e t_R = 24.3 min. para o enantiômero (*R*).

Etanoato de (*R*)-1-[4-(5,5-dimetil-1,3,2-dioxaborinan-2-il)fenil]etila, [(*R*)-72d]



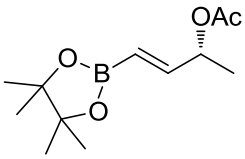
Rendimento: 170 mg (41%), ee >99%, $[\alpha]_D^{23}$ = +67,4 (*c* 1,0, $CHCl_3$).
Separação dos enantiômeros por CG: coluna capilar CP-CHIRASIL-DEX CB (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm), isoterma de 160 ºC, fluxo 100 kPa t_R = 22,5 min. para o enantiômero (*S*) e t_R = 23,4 min. para o enantiômero (*R*).

(*S*)-(E)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)but-3-en-2-ol, [(*S*)-65e]



Rendimento: 136 mg (45%), ee >99%, $[\alpha]_D^{24}$ = +11,8 (*c* 1,0, MeOH).
Separação dos enantiômeros por CLAE: coluna Chiralcel® OJ-H, *n*-hexano/*i*-PrOH (99,5:0,5), 0,5 mL/min., detector UV, λ = 220 nm, t_R = 13,3 min. para o enantiômero (*R*) e t_R = 15.8 min. para o enantiômero (*R*).

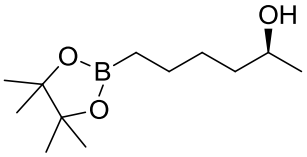
Etanoato de (*E*)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)but-3-en-2-íla, [(*R*)-72e].



Rendimento: 155 mg (43%), ee 99%, $[\alpha]_D^{24}$ = +42,5 (*c* 1,0, MeOH).
Separação dos enantiômeros por CG: coluna capilar CP-CHIRASIL-DEX CB (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm), 100-150 ºC, 2 ºC/min fluxo 100 kPa t_R = 19,4 min. para o enantiômero (*S*) e t_R = 19,8 min. para o enantiômero (*R*).

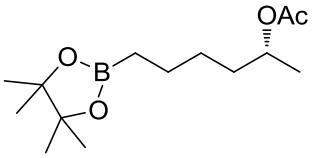
(*S*)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)hexan-2-ol, [(*S*)-65f].

O composto (*S*)-**65f** foi analisado por CG quiral na forma de (*S*)-**72f** após a reação de acetilação.



Rendimento: 156 mg (45%), ee >99%, $[\alpha]_D^{22}$ = +3,1 (*c* 1,08, $CHCl_3$).
Separação dos enantiômeros por CG: coluna capilar CP-CHIRASIL-DEX CB (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm), 100-180 ºC, 3 ºC/min fluxo 100 kPa t_R = 14,9 min. para o enantiômero (*S*) e t_R = 15,4 min. para o enantiômero (*R*).

Etanoato de (*R*)-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)hexan-2-oíla, [(*R*)-72f].

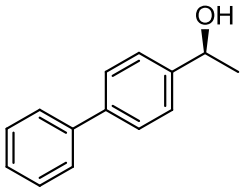


Rendimento: 192 mg (47%), ee >99%, $[\alpha]_D^{22}$ = -0,5 (*c* 1,0, $CHCl_3$). Separação dos enantiômeros por CG: coluna capilar CP-CHIRASIL-DEX CB (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm), 100-180 ºC, 3 ºC/min fluxo 100 kPa t_R = 14,9 min. para o enantiômero (*S*) e t_R = 15,4 min. para o enantiômero (*R*).

*8.2.22. Determinação da configuração absoluta dos álcoois (S)-**65a,b***

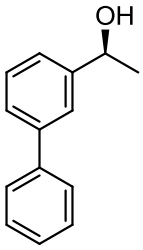
Os compostos (*S*)-**77a,b** foram preparados de acordo com o método descrito no item 8.2.16.

(*S*)-1-(bifenil-4-il)etanol [(*S*)-77a]



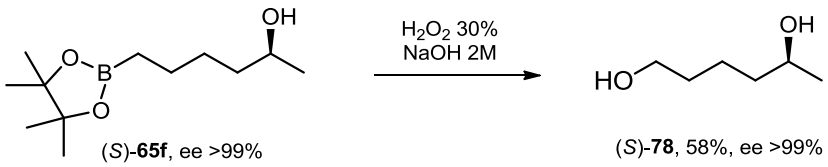
Rendimento: 78 mg (79%), ee 96%, $[\alpha]_D^{24}$ = -46,6 (*c* 1,0, $CHCl_3$). Lit,[142] $[\alpha]_D^{28}$ = -43,7 (*c* 0,75, $CHCl_3$).
Separação dos enantiômeros por CLAE: coluna Chiralcel® OD, *n*-hexano/*i*-PrOH (95:5), 0,8 mL/min., detector UV, λ = 254 nm, t_R = 15,6 min. para o enantiômero (*R*) e t_R = 18.0 min. para o enantiômero (*R*).

(*S*)-1-(bifenil-3-il)etanol [(*S*)-77b]



Rendimento: 79 mg (80%), ee 99%, $[\alpha]_D^{24}$ = -37,8 (*c* 1,0, $CHCl_3$). Lit,[189] $[\alpha]_D^{20}$ = -38,0 (*c* 1,09, $CHCl_3$).
Separação dos enantiômeros por CLAE: coluna Chiralcel® OD, *n*-hexano/*i*-PrOH (95:5), 0,8 mL/min., detector UV, λ = 254 nm, t_R = 14,9 min. para o enantiômero (*R*) e t_R = 29.5 min. para o enantiômero (*R*).

*8.2.23. Determinação da configuração absoluta do álcool (S)-**65f**[144]*



Em um balão de 25 mL, contendo o álcool (*S*)-**65f** (0,5 mmol, 114 mg) e uma solução aquosa 2 M de NaOH (10 equiv., 5 mmol, 2,5 mL) foi adicionado lentamente uma solução 30% de H_2O_2 (10 equiv., 270 mg, 566 μL) a 0 °C. A mistura reacional foi agitada por 30 minutos. Et_2O (10 mL) foi adicionado e a fase orgânica foi separada e lavada com uma solução saturada de $NaHCO_3$ (2 mL) uma solução saturada de NaCl (2 mL). A fase aquosa foi extraída com acetato de etila (5 x 5 mL) e as fases orgânicas foram combinadas e secas com $MgSO_4$ anidro. O solvente foi removido e o produto purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano e acetato de etila (1:4) como eluente.

O composto (*S*)-**78** foi obtido como óleo incolor com 58% de rendimento (28 mg), ee >99%, $[\alpha]_D^{22}$ = +6,3 (*c* 1,1, MeOH). Lit,[145] $[\alpha]_D^{20}$ = +12,9 (*c* 1,0, MeOH).

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CHCl_3$) δ = 1,12 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H), 1,33 – 1,55 (m, 6H), 1,78 (br, 2H), 3,58 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H), 3,73 (quint, *J* = 6,2 Hz, 1H) .

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ = 22,05, 23,71, 32,68, 38,99, 62,84, 68,14.

CG-EM (IE) *m/z* (%): 118(1, M^+), 103(6), 87(10), 75(22), 56(60), 45 (100).

*8.2.24. Procedimento geral para a resolução cinética dinâmica quimio-enzimática do álcool (RS)-**65a***

Em um frasco de Schlenk de 25 mL, seco, e sob atmosfera de N_2, foi adicionado KO*t*-Bu (0,67 mg, 6 μmol), o complexo de rutênio (**64** ou **73**, 5 μmol) e tolueno (1 mL). A mistura foi mantida sob agitação a 30 ºC por 6 minutos. Após, foi adicionado a CALB (12 mg), K_3PO_4 (0,2 mmol, 42,5 mg) e álcool (*RS*)-**65a** (0,2 mmol, 49,6 mg). Após 4 minutos, foi adicionado a acetato de isopropenila (0,3 mmol, 33 μL). A mistura reacional foi mantida por 24 h a 30 ºC. Após este período a mistura reacional foi filtrada sob celite e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O produto acetilado (*R*)-**72a** foi purificado por cromatografia em uma pequena coluna de sílica-gel, eluída com hexano e acetato de etila (8:2).

*8.2.25. Resolução cinética enzimática das aminas (RS)-1-((4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etanaminas, [(RS)-**84a,b**]*

8.2.25.1. Reações de avaliação

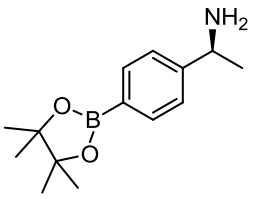
Em um vial de 10 ml foi adicionado a amina (**3a** ou **3b**, 24,7 mg, 0,1 mmol), CALB (Novozym 435, 20mg), o solvente (2 mL) e o doador de acila (0,4 mmol). A mistura reacional foi agitada (Thermomixer Comfort, Eppendorf) a 700 rpm nas temperaturas e os tempos reacionais apropriados. A mistura foi filtrada e a enzima lavada com acetato de etila (5 mL), e o solvente evaporado sob pressão reduzida. A amida (*R*)-**84a** ou (*R*)-**84b** foi separada da amina que não reagiu por cromatografia em uma pequena coluna de sílica-gel. A coluna cromatográfica foi inicialmente eluída com uma mistura de hexano e acetato de etila (9:1) para remover a amida e em seguida eluída com hexano e acetato de etila (6:4) para a remoção das aminas.

8.2.25.2. Reações em escala preparativa

As reações em escala preparativa foram realizadas em um reator Buchi Syncore®.

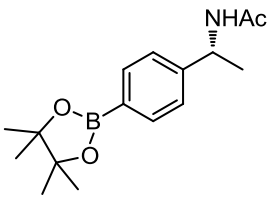
Em um tubo de 60 mL do reator, foram adicionados a amina (**84a** ou **84b**, 370,7 mg, 1,5 mmol), CALB (Novozym 435, 300 mg) e acetato de etila (30 mL). A mistura reacional foi agitada a 50 ºC por 48 h a 450 rpm. Após este período, a mistura reacional foi filtrada e a enzima lavada com acetato de etila (15 mL), e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. A amida (*R*)-**86a** ou (*R*)-**86b** foi separada da amina que não reagiu por cromatografia em uma pequena coluna de sílica-gel. A coluna cromatográfica foi inicialmente eluída com uma mistura de hexano e acetato de etila (9:1) para remover a amida (*R*)-**86a** ou (*R*)-**86b** e em seguida, eluída com hexano e acetato de etila (6:4) para a remoção da amina (*S*)-**84a** ou (*S*)-**84b**.

(*S*)-1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etanamina, [(*S*)-84a]



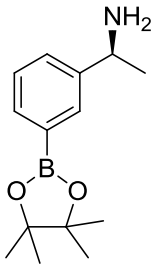
Rendimento: 195 mg (52%), ee 83%, $[\alpha]_D^{21}$ = -26,7 (*c* 1,0, CH_3Cl).
Separação dos enantiômeros por CLAE: coluna Chiralcel® OD-H, *n*-hexano/*i*-PrOH (98:2), 0,8 mL/min., detector UV, λ = 227 nm, t_R = 12,8 min. para o enantiômero (*S*) e t_R = 14.4 min. para o enantiômero (*R*).

(*R*)-*N*-(1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etil)acetamida, [(*R*)-86a]



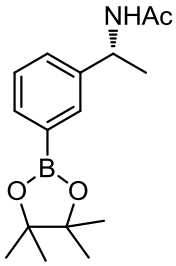
Rendimento: 189 mg (43%), ee >99%, $[\alpha]_D^{21}$ = +84,6 (*c* 1,0, CH_3Cl). Separação dos enantiômeros por CG: coluna capilar CP-CHIRASIL-DEX CB (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm), 150-175 ºC, 1 ºC/min fluxo 100 kPa t_R = 16,4 min. para o enantiômero (*S*) e t_R = 16,9 min. para o enantiômero (*R*).

(*S*)-1-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etanamina, [(*S*)-84b]



Rendimento: 195 mg (52%), ee 78%, $[\alpha]_D^{21}$ = -15,6 (*c* 0,98, CH_3Cl). Separação dos enantiômeros por CLAE: coluna Chiralcel® OD-H, *n*-hexano/*i*-PrOH (98:2), 0,8 mL/min., detector UV, λ = 227 nm, t_R = 15,3 min. para o enantiômero (*S*) e t_R = 17.0 min. para o enantiômero (*R*).

(*R*)-*N*-(1-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etil)acetamida, [(*R*)-86b]



Rendimento: 183 mg (42%), ee >99%, $[\alpha]_D^{21}$ = +55,2 (*c* 1,0, CH_3Cl). Separação dos enantiômeros por CG: coluna capilar CP-CHIRASIL-DEX CB (25 m x 0,25 mm x 0,25 μm), 150-175 ºC, 1 ºC/min fluxo 100 kPa t_R = 12,4 min. para o enantiômero (*S*) e t_R = 12,7 min. para o enantiômero (*R*).

8.2.26. Procedimento geral para o crescimento dos fungos Aspergillus terreus e Rhizopus oryzae

Em um frasco de Erlenmeyer de 3 L, foi adicionado o meio de cultura (10 g de peptona, 20 g de D-Glucose e 1 L de água destilada). O meio foi esterilizado por autoclavagem por 20 minutos a 120 ºC. Sob condições assépticas e em capela de fluxo laminar o meio foi inoculado pela transferência de células do fungo presentes em meio de cultura sólido (*slant*) para o meio de cultura líquido, com o auxílio de uma alça de platina. A cultura foi incubada em um agitador orbital (160 rpm) por 5 dias a uma temperatura de 32 ºC.

Para a utilização da massa celular para as reações de biorredução, as células foram filtradas em um funil de Buchner com papel filtro.

8.2.27. Preparação da solução tampão fosfato (pH 7, 50 mM) utilizada nas reações de biorredução

Para a preparação da solução fosfato (pH 7, 50 mM) foram solubilizados Na_2HPO_4 (4,40 g) e KH_2PO_4 (2,59 g) em água destilada (1L).

*8.2.28. Procedimento geral para a biorredução das cetonas **59a,b** na presença dos fungos Aspergillus terreus e Rhizopus oryzae*

Em um frasco de Erlenmeyer de 125 mL, contendo a solução tampão fosfato (60 mL) ou uma mistura da solução tampão fosfato (48 mL) e o co-solvente orgânico (12 mL), foi adicionado a cetona **59a** ou **59b** (0,1 mmol, 24,6 mg) e o fungo apropriado (3g de massa celular úmida). A mistura foi mantida sob agitação em um agitador orbital (160 rpm) a uma temperatura de 32 ºC por 24 ou 48 horas. Após este período, o meio reacional foi filtrado, e as células lavadas com acetato de etila (5 x 10 mL), e a fase aquosa foi extraída com acetato de etila (5 x 10 mL). As fases orgânicas foram combinadas e secas com $MgSO_4$ anidro. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi então analisado por CLAE.

*8.2.29. Procedimento geral para a biorredução das cetonas **59a,b** com a enzima álcool desidrogenase de Lactobacillus kefir*

Em tubos de plástico de 2,0 mL contendo o composto **59a,b** (50 μmol; 12,4 mg) foram adicionados solução tampão de fosfato de pH 7,1 (50 mM, 800 μL) contendo $MgCl_2$ (0,001 mmol; 0,095 mg), NADPH (0,01 mmol, 8,33 mg), 1 U da ADH de *L. Kefir* e isopropanol (200 μL). A mistura reacional foi incubada a 30 ºC em agitador rotativo a 700 rpm por 24 h. Transferiu-se a mistura reacional para tubos de plástico de 15 mL e adicionou-se éter etílico (2 mL), então agitou-se a solução resultante em agitador de tubos por 1 minuto, seguido de centrifugação (6000 rpm por 3 minutos) para uma melhor separação das fases. A fase aquosa foi extraída novamente com éter etílico (2 mL). As fases orgânicas foram combinadas e secas com $MgSO_4$ anidro. A mistura resultante foi analisada por CLAE.

*8.2.30. Procedimento geral para a biorredução das cetonas **59a,b** com a enzima álcool desidrogenase de Thermoanaerobium brockii*

Em tubos de plástico de 2,0 mL contendo o composto **59a,b** (50 μmol; 12,4 mg) foram adicionados solução tampão de fosfato de pH 7,8 (50 mM, 800 μL) contendo NADPH (0,01 mmol, 8,33 mg), 1 U da ADH de *T. Brockii* e isopropanol (200 μL). A mistura reacional foi incubada a 30 ºC em agitador rotativo a 700 rpm por 24 h. Transferiu-se a mistura reacional para tubos de plástico de 15 mL e adicionou-se éter etílico (2 mL), então agitou-se a solução resultante em agitador de tubos por 1 minuto, seguido de centrifugação (6000 rpm por 3 minutos) para uma melhor separação das fases. A fase aquosa foi extraída novamente com éter etílico (2 mL). As fases orgânicas foram combinadas e secas com $MgSO_4$ anidro. A mistura resultante foi analisada por CLAE.

*8.2.31. Procedimento geral para biorredução das cetonas contendo boro **59a-j** e **66a,b** pelas ADH de L. brevis (ADH-LB) e R. rubber (ADH-A)*

Em um vial de 2 mL, foram adicionados solução tampão (50 mM, pH 7,5) contendo NADPH (1 mM, quando utilizado a ADH-LB) ou NADH (1 mM, quando utilizado a ADH-A), o substrato (50 mM), 2-propanol (100 µL) e a ADH [ADH-LB (300 µL, extrato cru) ou ADH-A (150 μL, precipitado térmico)], levando a um volume final de 1 mL. As amostras foram incubadas por 24 horas a 30 ºC e 120 rpm.

A reação foi finalizada pela adição de éter dietilico (500 μL) e a solução resultante foi agitada e posteriormente centrifugada (5 minutos a 13000 rpm). A fase orgânica foi separada e este procedimento foi repetido mais duas vezes. As fases orgânicas foram combinadas e secas sob Na_2SO_4 anidro. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida, e o resíduo obtido foi analisado por CLAE para a medida dos excessos enantioméricos, e por CG para a medida das conversões.

9. Referências bibliográficas

(1) Lin, G.-Q.; Li, Y.-M.; Chan, A. S. C. *Principles and applications of asymmetric synthesis*; John Wiley & Sons: NewYork, 2001.

(2) Blaser, H.-U.; Schmidt, E. *Asymmetric catalysis on industrial scale: Challenges, approaches and solutions*; WILEY-VCG Verlag GmbH: Weinheim, 2004.

(3) Sheldon, R. A. *Chirotechnology - Industrial synthesis of optically active compound*; Marcel Dekker: New York, 1993.

(4) Burton, M. E.; Shaw, L. M.; Schentag, J. J.; Evans, W. E. *Applied pharmacokinetics and pharmacodynamics: principles of therapeutic drug monitoring*; 4 ed.; Lippincot Willians & Wilkins: Pennsylvania, 2006.

(5) FDA FDA'S policy statement for the development of new stereoisomeric drugs, *Chirality* **1992**, *4*, 338-340.

(6) Thayer, A. In *Chem. Eng. News* 2008; Vol. 86, p 12-20.

(7) Thayer, A. In *Chem. Eng. News* 2005; Vol. 83, p 49-53.

(8) Aehle, W. *Enzymes in Industry: Production and Aplications*; WILEY-VCG Verlag GmbH: Weinhein, 2007.

(9) Bommarius, A. S.; Riebel, B. R. *Biocatalysis*; WILEY-VHC: Weinhein, 2004.

(10) Faber, K. *Biotransformations in organic synthesis*; 5 ed.; Springer-Verlag: Berlin, 2004.

(11) Matsuda, T. *Future directions in biocatalysis*; Elsevier: Amsterdam, 2007.

(12) Pollard, D. J.; Woodley, J. M. Biocatalysis for pharmaceutical intermediates: the future is now, *Trends Biotechnol.* **2006**, *25*, 66-73.

(13) Schmid, A.; Dordick, J. S.; Hauer, B.; Kiener, A.; Wubbolts, M.; Witholt, B. Industrial biocatalysis today and tomorrow, *Nature* **2001**, *409*, 258-268.

(14) Castro, I. N. d.; ALONSO, F. J. Energy diagrams for enzyme catalysed reactions: a confusing point in the textbooks *Biochem. Educ.* **1997**, *25*, 87-89.

(15) Aledo, J. C.; Lobo, C.; Valle, A. E. d. Energy diagrams for enzyme-catalyzed reactions: Concepts and misconcepts, *Biochem. Mol. Biol. Educ.* **2003**, *31*, 234-236.

(16) Dakin, H. D. The hydrolysis of ethyl mandelate by lipase, *Proc. Chem. Soc., London* **1903**, 161.

(17) Dakin, H. D. The hydrolysis of optically inactive esters by means of enzymes. part I. the action of lipase upon esters of mandelic acid. the resolution of inactive mandelic acid., *J. Physiol* **1904**, *30*, 253-263.

(18) Sym, E. A. Action of esterase in the presence of organic solvents, *Biochem. J.* **1936**, *30*, 609-617.

(19) Kazlauskas, R. J. Enhancing catalytic promiscuity for biocatalysis, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2005**, *9*, 195-201.

(20) O'Brien, P. J.; Herschlag, D. Catalytic promiscuity and the evolution of new enzymatic activities, *Chem. Biol.* **1999**, *6*, R91-R105.

(21) Sobhani, S.; Tashrifi, Z. Synthesis of α-functionalized phosphonates from α-hydroxyphosphonates, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 1429-1439.

(22) Albrecht, Ł.; Albrecht, A.; Krawczyk, H.; Jørgensen, K. Organocatalytic asymmetric synthesis of organophosphorus compounds, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 28-48.

(23) Kielbasinski, P.; urawinski, R.; Michal Pietrusiewicz, K.; Zablocka, M.; Mikolajczyk, M. Enzymatic resolution of racemic phosphinoylacetates having a stereogenic phosphorus atom, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 7081-7084.

(24) Zymanczyk-Duda, E.; Lejczak, B.; Kafarski, P.; Grimaud, J.; Fischer, P. Enantioselective reduction of diethyl 2-oxoalkylphosphonates by baker's yeast, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 11809-11814.

(25) Zymanczyk-Duda, E.; Kafarski, P.; Lejczak, B. Reductive biotransformation of diethyl [beta]-, [gamma]- and [delta]-oxoalkylphosphonates by cells of baker's yeast, *Enzyme Microb. Technol.* **2000**, *26*, 265-270.

(26) Kafarski, P.; Lejczak, B. Application of bacteria and fungi as biocatalysts for the preparation of optically active hydroxy phosphonates, *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2004**, *29*, 99-104.

(27) Zhang, Y.; Xu, C.; Li, J.; Yuan, C. Enzymatic synthesis of optically active [delta]-hydroxy-[beta]-ketoalkanephosphonates, *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 63-70.

(28) Kielbasinski, P.; Omelanczuk, J.; Mikolajczyk, M. Lipase-promoted kinetic resolution of racemic, P-chiral hydroxymethylphosphonates and phosphinates, *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 3283-3287.

(29) Kielbasinski, P.; Albrycht, M.; Luczak, J.; Mikolajczyk, M. Enzymatic reactions in ionic liquids: lipase-catalysed kinetic resolution of racemic, P-chiral hydroxymethanephosphinates and hydroxymethylphosphine oxides, *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, *13*, 735-738.

(30) Albrycht, M.; Kielbasinski, P.; Drabowicz, J.; Mikolajczyk, M.; Matsuda, T.; Harada, T.; Nakamura, K. Supercritical carbon dioxide as a reaction medium for enzymatic kinetic resolution of P-chiral hydroxymethanephosphinates, *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 2015-2018.

(31) Spangler, L. A.; Mikolajczyk, M.; Burdge, E. L.; Kielbasinski, P.; Smith, H. C.; Lyzwa, P.; Fisher, J. D.; Omelanczuk, J. Synthesis and Biological Activity of Enantiomeric Pairs of Phosphosulfonate Herbicides, *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *47*, 318-321.

(32) Carmen Carreno, M.; Hernandez-Torres, G.; Ribagorda, M.; Urbano, A. Enantiopure sulfoxides: recent applications in asymmetric synthesis, *Chem. Commun.* **2009**, 6129-6144.

(33) Pellissier, H. Use of chiral sulfoxides in asymmetric synthesis, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 5559-5601.

(34) Ohta, H.; Kato, Y.; Tsuchihashi, G.-i. Enzyme mediated synthesis of optically active ω-arenesulfinylalkanoic esters *Chem. Lett.* **1986**, 217-218.

(35) Burgess, K.; Henderson, I. A facile route to homochiral sulfoxides, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 3633-3636.

(36) Kielbasinski, P.; Rachwalski, M.; Mikolajczyk, M.; Moelands, M. A. H.; Zwanenburg, B.; Rutjes, F. P. J. T. Lipase-promoted dynamic kinetic resolution of racemic β-hydroxyalkyl sulfones, *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 2157-2160.

(37) Iriuchijima, S.; Kojima, N. Comparative asymmetric reduction of phenylthioacetone, (±)-phenylsulfinylacetone and phenylsulfonylacetone with fermenting bakers' yeast, *Agric. Biol. Chem.* **1978**, *42*, 451-455.

(38) Ohta, H.; Kato, Y.; Tsuchihashi, G. Studies on enzymic oxidation of sulfides. V. Switching of the direction of enzyme-mediated oxidation and reduction of sulfur-substituted 2-propanols and 2-propanones, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2735-2739.

(39) Robin, S.; Huet, F.; Fauve, A.; Veschambre, H. Microbiological reduction of keto-sulfones. Application in a three-step synthesis of (S)-(+)-[beta]-angelica lactone, *Tetrahedron: Asymmetry* **1993**, *4*, 239-246.

(40) Chinchilla, R.; Nájera, C.; Pardo, J.; Yus, M. Lipase-catalysed resolution of hydroxy sulfones, *Tetrahedron: Asymmetry* **1990**, *1*, 575-578.

(41) Mukherjee, A. J.; Zade, S. S.; Singh, H. B.; Sunoj, R. B. Organoselenium chemistry: Role of intramolecular interactions, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 4357-4416.

(42) , E. J.; Jacob, R. G.; Panatieri, R. B. Synthesis of vinyl selenides, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 1277-1301.

(43) Comasseto, J. V.; Barrientos-Astigarraga, R. E. Add a little tellurium to your synthetic plans, *Aldrichim. Acta* **2000**, *33*, 66-78.

(44) Princival, J. L.; Santos, A. A. D.; Comasseto, J. V. Reactive organometallics from organotellurides: Application in organic synthesis, *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, 2042-2054.

(45) Mugesh, G.; du Mont, W.-W.; Sies, H. Chemistry of biologically important synthetic organoselenium compounds, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2125-2180.

(46) Nogueira, C. W.; Zeni, G.; Rocha, J. B. T. Organoselenium and organotellurium compounds: Toxicology and pharmacology, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 6255-6286.

(47) Ferraboschi, P.; Grisenti, P.; Santaniello, E. Lipase-catalyzed resolution of (*RS*)-2-methyl-4-phenylseleno-1-butanol: synthesis of enantiomerically pure 2-methyl-1,3-propanediol derivatives, *Synlett* **1990**, 545,546.

(48) Comasseto, J. V.; Gariani, R. A. Biotransformations on organic selenides and tellurides: synthetic applications, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 8447-8459.

(49) Omori, Á. T.; Assis, L. F.; Andrade, L. H.; Comasseto, J. V.; Porto, A. L. M. Enantiomerically pure organoseleno-1-arylethanols by enzymatic resolution with *Candida antarctica* lipase: Novozym 435, *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 1048-1053.

(50) Andrade, L. H.; Silva, A. V. First chemoenzymatic synthesis of organoselenium amines and amides, *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 1175-1181.

(51) Dos Santos, A. A.; Da Costa, C. E.; Princival, J. L.; Comasseto, J. V. Lipase-catalyzed kinetic resolution of (*RS*)-hydroxy tellurides, *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 2252-2259.

(52) Ferrarini, R. S.; Comasseto, J. V.; Dos Santos, A. A. Tellurium in organic synthesis: the enantioselective synthesis of the pheromone blend components of *Mayetiola destructor*, *Drosophila mulleri* and *Contarinia pisi*, *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 2043-2047.

(53) Wuts, P. G. M.; Greene, T. W. *Greene's protective groups in organic synthesis*; 4 ed.; Wiley: Hoboken, 2007.

(54) Chan, T. H.; Wang, D. Chiral organosilicon compounds in asymmetric synthesis, *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 995-1006.

(55) Bains, W.; Tacke, R. Silicon chemistry as a novel source of chemical diversity in drug design, *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2006**, *6*, 526-543.

(56) Frampton, M.; Zelisko, P. Organosilicon biotechnology, *Silicon* **2009**, *1*, 147-163.

(57) Syldatk, C.; Stoffregen, A.; Wuttke, F.; Tacke, R. Enantioselective reduction of acetyldimethylphenylsilane: A screening with thirty strains of microorganisms, *Biotechnol. Lett.* **1988**, *10*, 731-734.

(58) Zhang, B.-B.; Lou, W.-Y.; Zong, M.-H.; Wu, H. Efficient synthesis of enantiopure (*S*)-4-(trimethylsilyl)-3-butyn-2-ol via asymmetric reduction of 4-(trimethylsilyl)-3-butyn-2-one with immobilized *Candida parapsilosis* CCTCC M203011 cells, *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2008**, *54*, 122-129.

(59) Uejima, A.; Fukui, T.; Fukusaki, E.; Omata, T.; Kawamoto, T.; Sonomoto, K.; Tanaka, A. Efficient kinetic resolution of organosilicon compounds by stereoselective esterification with hydrolases in organic solvent, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1993**, *38*, 482-486.

(60) Stille, J. K. The palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organotin reagents with organic electrophiles [New synthetic methods (58)], *Angew. Chem., Int. Ed.* **1986**, *25*, 508-524.

(61) Espinet, P.; Echavarren, A. M. The mechanisms of the Stille reaction, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 4704-4734.

(62) Itoh, T.; Ohta, T. A simple method for the preparation of optically active α-hydroxystannanes by the enantioselective hydrolysis using a lipase, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 6407-6408.

(63) Itoh, T.; Ohta, T.; Sano, M. An efficient preparation of the optically active γ-hydroxy stannanes using lipase-catalyzed hydrolysis, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 6387-6390.

(64) Itoh, T.; Ohta, T. Simple preparation of the optically active γ-hydroxy vinylstannanes using lipase-catalyzed hydrolysis, *Chem. Lett.* **1991**, *20*, 217-218.

(65) Itoh, T.; Emoto, S.; Kondo, M.; Ohara, H.; Tanaka, H.; Torii, S. Synthesis of optically active 1,3-dienes from alkenylstannanes by a combination of electro-oxidation and copper-mediated homocoupling reaction, *Electrochim. Acta* **1997**, *42*, 2133-2142.

(66) Itoh, T.; Emoto, S.; Kondo, M. Synthesis of enantiomerically pure tributylstannylcyclopropanes through lipase-catalyzed reaction, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 5225-5232.

(67) Tacke, R.; Wagner, S. A.; Sperlich, J. Synthesis of (-)-(acetoxymethyl)(hydroxymethyl)methyl(phenyl)germane (-)-MePHGe(CH_2OAC)(CH_2OH) by an esterase-catalyzed transesterification - the 1st enzymatic-synthesis of an optically-active germane, *Chem. Ber.* **1994**, *127*, 639-642.

(68) Tacke, R.; Kosub, U.; Wagner, S. A.; Bertermann, R.; Schwarz, S.; Merget, S.; Gunther, K. Enzymatic transformation and liquid-chromatographic separation as methods for the preparation of the (*R*)- and (*S*)-enantiomers of the centrochiral

hydridogermanes *p*-$XC_6H_4(H)Ge(CH_2OAc)CH_2OH$ (X = H, F), *Organometallics* **1998**, *17*, 1687-1699.

(69) Tacke, R.; Reichel, D.; Jones, P. G.; Hou, X.; Waelbroeck, M.; Gross, J.; Mutschler, E.; Lambrecht, G. Pharmacological discrimination between enantiomeric germanes by muscarinic receptors: a study on germanium/silicon bioisosterism, *J. Organomet. Chem.* **1996**, *521*, 305-323.

(70) Hall, D. G. *Boronic acids: preparation and applications in organic synthesis and medicine*; Wiley-VHC Verlag: Weinheim, 2005.

(71) Darses, S.; Genet, J. P. Potassium organotrifluoroborates: New perspectives in organic synthesis, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 288-325.

(72) Stefani, H. A.; Cella, R.; Vieira, A. S. Recent advances in organotrifluoroborates chemistry, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 3623-3658.

(73) Molander, G. A.; Ellis, N. Organotrifluoroborates: Protected boronic acids that expand the versatility of the Suzuki coupling reaction, *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 275-286.

(74) Molander, G. A.; Figueroa, R. Organotrifluoroborates: Expanding organoboron chemistry, *Aldrichim. Acta* **2005**, *38*, 49-56.

(75) Frankland, E.; Duppa, B. F. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1860**, *115*, 319.

(76) Brown, H. C.; Rao, B. C. S. A new technique for the conversion of olefins into organoboranes and related alcohols, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 5694-5695.

(77) Ramachandran, P. V. Pinane-based versatile “allyl” boranes, *Aldrichim. Acta* **2002**, *35*, 23-35.

(78) Crudden, Cathleen M.; Edwards, D. Catalytic asymmetric hydroboration: recent advances and applications in carbon−carbon bond-forming reactions, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, *2003*, 4695-4712.

(79) Carroll, A.-M.; O'Sullivan, T. P.; Guiry, P. J. The development of enantioselective rhodium-catalysed hydroboration of olefins, *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 609-631.

(80) Lata, C. J.; Crudden, C. M. Dramatic effect of lewis acids on the rhodium-catalyzed hydroboration of olefins, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *132*, 131-137.

(81) Ely, R. J.; Morken, J. P. Regio- and stereoselective Ni-catalyzed 1,4-hydroboration of 1,3-dienes: Access to stereodefined (*Z*)-allylboron reagents and derived allylic alcohols, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 2534-2535.

(82) Pubill-Ulldemolins, C.; Bonet, A.; Bo, C.; Gulyas, H.; Fernandez, E. A new context for palladium mediated B-addition reaction: an open door to consecutive functionalization, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 2667-2682.

(83) Ishiyama, T.; Murata, M.; Miyaura, N. Palladium(0)-catalyzed cross-coupling reaction of alkoxydiboron with haloarenes: A direct procedure for arylboronic esters, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7508-7510.

(84) Ishiyama, T.; Itoh, Y.; Kitano, T.; Miyaura, N. Synthesis of arylboronates via the palladium(0)-catalyzed cross-coupling reaction of tetra(alkoxo)diborons with aryl triflates, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3447-3450.

(85) Miyaura, N.; Suzuki, A. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457-2483.

(86) Miyamura, N.; Suzuki, A. *J. Chem. Soc. Chem.. Commun.* **1979**, 866.

(87) Carey, J. S.; Laffan, D.; Thomson, C.; Williams, M. T. Analysis of the reactions used for the preparation of drug candidate molecules, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 2337-2347.

(88) The Nobel Prize in Chemistry 2010 (http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2010), acessado em 01 de novembro de 2010

(89) Kohno, J.; Kawahata, T.; Otake, T.; Morimoto, M.; Mori, H.; Ueba, N.; Nishio, M.; Kinumaki, A.; Komatsubara, S.; Kawashima, K. Boromycin, an anti-HIV antibiotic, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1996**, *60*, 1036-1037.

(90) Dembitsky, V. M.; Smoum, R.; Al-Quntar, A. Z.; Ali, H. A.; Pergament, I.; Srebnik, M. Natural occurrence of boron-containing compounds in plants, algae and microorganisms *Plant Science* **2002**, *163*, 931-942.

(91) O'Neill, M. A.; Eberhard, S.; Albersheim, P.; Darvill, A. G. Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for *Arabidopsis* growth, *Science* **2001**, *294*, 846-849.

(92) Yang, W.; Gao, X.; Wang, B. Boronic acid compounds as potential pharmaceutical agents, *Med. Res. Rev.* **2003**, *23*, 346-368.

(93) Koehler, K. A.; Lienhard, G. E. *Biochemistry* **1971**, *10*, 2477.

(94) Lindquist, R. N.; Terry, C. J. *Biol. Chem.* **1974**, *248*, 16035.

(95) Teicher, B. A.; Ara, G.; Herbst, R.; Palombella, V. J.; Adams, J. The proteasome inhibitor PS-341 in cancer therapy *Clin. Cancer Res.* **1999**, *5*, 2638-2645.

(96) Verdoes, M.; Florea, B. I.; van der Linden, W. A.; Renou, D.; van den Nieuwendijk, A. M. C. H.; van der Marel, G. A.; Overkleeft, H. S. Mixing of peptides and electrophilic traps gives rise to potent, broad-spectrum proteasome inhibitors, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1416-1426.

(97) Myung, J.; BoKim, K.; Crews, C. M. The ubiquitin-proteasome pathway and proteasome inhibitors, *Med. Res. Rev.* **2001**, *21*, 245-273.

(98) Nalepa, G.; Rolfe, M.; Harper, J. W. Drug discovery in the ubiquitin-proteasome system, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2006**, *5*, 596-613.

(99) Garner, C. W. Boronic acid inhibitors of porcine pancreatic lipase, *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 5064-5068.

(100) Ebdrup, S.; Jacobsen, P.; Farrington, A. D.; Vedsø, P. Structure–activity relationship for aryl and heteroarylboronic acid inhibitors of hormone-sensitive lipase, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 2305-2312.

(101) Raghavendra, M. P.; Prakash, V. Phenyl boronic acids-A potent inhibitor of lipase from *Oryza sativa*, *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 6037-6041.

(102) Bellemin-Laponnaz, S.; Tweddell, J.; Ruble, J. C.; Breitling, F. M.; Fu, G. C. The kinetic resolution of allylic alcohols by a non-enzymatic acylation catalyst;application to natural product synthesis, *Chem. Commun.* **2000**, 1009-1010.

(103) Ghanem, A. Trends in lipase-catalyzed asymmetric access to enantiomerically pure/enriched compounds, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 1721-1754.

(104) Ghanem, A.; Aboul-Enein, H. Y. Lipase-mediated chiral resolution of racemates in organic solvents, *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 3331-3351.

(105) Ghanem, A.; Aboul-Enein, H. Y. Application of lipases in kinetic resolution of racemates, *Chirality* **2005**, *17*, 1-15.

(106) Kamal, A.; Azhar, M. A.; Krishnaji, T.; Malik, M. S.; Azeeza, S. Approaches based on enzyme mediated kinetic to dynamic kinetic resolutions: A versatile route for chiral intermediates, *Coord. Chem. Rev.* **2008**, *252*, 569-592.

(107) Brady, L.; Brzozowski, A. M.; Derewenda, Z. S.; Dodson, E.; Dodson, G.; Tolley, S.; Turkenburg, J. P.; Christiansen, L.; Huge-Jensen, B.; Norskov, L.; Thim, L.; Menge, U. A serine protease triad forms the catalytic centre of a triacylglycerol lipase, *Nature* **1990**, *343*, 767-770.

(108) Uppenberg, J.; Hansen, M. T.; Patkar, S.; Jones, T. A. The sequence, crystal structure determination and refinement of two crystal forms of lipase B from *Candida antarctica*, *Structure* **1994**, *2*, 293 - 308

(109) Carter, P.; Wells, J. A. Dissecting the catalytic triad of a serine protease, *Nature* **1988**, *332*, 564-568.

(110) Kazlauskas, R. J.; Weissfloch, A. N. E.; Rappaport, A. T.; Cuccia, L. A. A rule to predict which enantiomer of a secondary alcohol reacts faster in reactions catalyzed by cholesterol esterase, lipase from Pseudomonas cepacia, and lipase from Candida rugosa, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2656-2665.

(111) Straathof, A. J. J.; Jongejan, J. A. The enantiomeric ratio: origin, determination and prediction, *Enzyme Microb. Technol.* **1997**, *21*, 559-571.

(112) Chen, C. S.; Fujimoto, Y.; Girdaukas, G.; Sih, C. J. Quantitative analyses of biochemical kinetic resolutions of enantiomers, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 7294-7299.

(113) Chen, C. S.; Wu, S. H.; Girdaukas, G.; Sih, C. J. Quantitative analyses of biochemical kinetic resolution of enantiomers. 2. Enzyme-catalyzed esterifications in water-organic solvent biphasic systems, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 2812-2817.

(114) Dinh, P. M.; Howarth, J. A.; Hudnott, A. R.; Williams, J. M. J.; Harris, W. Catalytic racemisation of alcohols: Applications to enzymatic resolution reactions, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 7623-7626.

(115) Choi, Y. K.; Suh, J. H.; Lee, D.; Lim, I. T.; Jung, J. Y.; Kim, M.-J. Dynamic kinetic resolution of acyclic allylic acetates using lipase and palladium, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8423-8424.

(116) Allen, J. V.; Williams, J. M. J. Dynamic kinetic resolution with enzyme and palladium combinations, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1859-1862.

(117) Berkessel, A.; Sebastian-Ibarz, M. L.; Müller, T. N. Lipase/aluminum-catalyzed dynamic kinetic resolution of secondary alcohols, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, *45*, 6567-6570.

(118) Wuyts, S.; Wahlen, J.; Jacobs, P. A.; De Vos, D. E. Heterogeneous vanadium catalysts for racemization and chemoenzymatic dynamic kinetic resolution of benzylic alcohols, *Green Chem.* **2007**, *9*, 1104-1108.

(119) Akai, S.; Tanimoto, K.; Kanao, Y.; Egi, M.; Yamamoto, T.; Kita, Y. A dynamic kinetic resolution of allyl alcohols by the combined use of lipases and $[VO(OSiPh_3)_3]$, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, *45*, 2592-2595.

(120) Persson, B. A.; Larsson, A. L. E.; Le Ray, M.; Bäckvall, J.-E. Ruthenium- and enzyme-catalyzed dynamic kinetic resolution of secondary alcohols, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1645-1650.

(121) Larsson, A. L. E.; Persson, B. A.; Bäckvall, J.-E. Enzymatic resolution of alcohols coupled with ruthenium-catalyzed racemization of the substrate alcohol, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1997**, *36*, 1211-1212.

(122) Choi, J. H.; Kim, Y. H.; Nam, S. H.; Shin, S. T.; Kim, M.-J.; Park, J. Aminocyclopentadienyl ruthenium chloride: catalytic racemization and dynamic kinetic resolution of alcohols at ambient temperature, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, *41*, 2373-2376.

(123) Martín-Matute, B.; Edin, M.; Bogár, K.; Kaynak, F. B.; Bäckvall, J.-E. Combined Ruthenium(II) and Lipase Catalysis for Efficient Dynamic Kinetic Resolution of Secondary Alcohols. Insight into the Racemization Mechanism, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8817-8825.

(124) Martín-Matute, B.; Åberg, J. B.; Edin, M.; Bäckvall, J.-E. Racemization of Secondary Alcohols Catalyzed by Cyclopentadienylruthenium Complexes: Evidence for an Alkoxide Pathway by Fast β-Hydride Elimination–Readdition, *Chemistry – A European Journal* **2007**, *13*, 6063-6072.

(125) Csjernyik, G.; Bogár, K.; Bäckvall, J.-E. New efficient ruthenium catalysts for racemization of alcohols at room temperature, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6799-6802.

(126) Bogár, K.; Martín-Matute, B.; Bäckvall, J. E. Large-scale ruthenium- and enzyme-catalyzed dynamic kinetic resolution of (*rac*)-1-phenylethanol, *Beilstein J. Org. Chem.* **2007**, *3*, 1-3.

(127) Tucker, C. E.; Davidson, J.; Knochel, P. Mild and stereoselective hydroborations of functionalized alkynes and alkenes using pinacolborane, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 3482-3485.

(128) Jehanno, E.; Vaultier, M. An easy access to vinylboronates β-substituted by a keto group, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 4439-4442.

(129) Fortineau, A.-D.; Robert, M.; Guégan, J.-P.; Carrié, D.; Mortier, J.; Vaultier, M. A convenient access to chiral and racemic (*Z*)-1-bromo-3-benzoxy-1-butene, *C. R. Acad. Sci. Paris, t.I* **1998**, *1*, 253-257.

(130) Karimi, B.; Seradj, H. *N*-Bromosuccinimide (NBS), a novel and highly effective catalyst for acetylation of alcohols under mild reaction conditions, *Synlett* **2001**, *2001*, 519-520.

(131) Fan, J.-C.; Shang, Z.-C.; Liang, J.; Liu, X.-H.; Liu, Y. The oxidation of alcohols to aldehydes and ketones with N-bromosuccinimide in polyethylene glycol: an experimental and theoretical study, *J. Phys. Org. Chem.* **2008**, *21*, 945-953.

(132) Edin, M.; Martín-Matute, B.; Bäckvall, J.-E. Ruthenium- and lipase-catalyzed DYKAT of 1,2-diols: an enantioselective synthesis of syn-1,2-diacetates, *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 708-715.

(133) Zhao, H.; Song, Z. Migration of reactive trace compounds from Novozym® 435 into organic solvents and ionic liquids, *Biochemical Engineering Journal* **2010**, *49*, 113-118.

(134) Mavrynsky, D.; Päiviö, M.; Lundell, K.; Sillanpää, R.; Kanerva, L. T.; Leino, R. Dicarbonylchloro(pentabenzylcyclopentadienyl)ruthenium as racemization catalyst in the dynamic kinetic resolution of secondary alcohols, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *2009*, 1317-1320.

(135) Tsai, W.-M.; Rausch, M. D.; Rogers, R. D. Improved synthesis of pentabenzylcyclopentadiene and study of the reaction between pentabenzylcyclopentadiene and iron pentacarbonyl, *Organometallics* **1996**, *15*, 2591-2594.

(136) Chen, Q.; Yuan, C. An unexpected ruthenium complex and its unique behavior as catalyst in dynamic kinetic resolution of secondary alcohols, *Chem. Commun.* **2008**, 5333-5335.

(137) Kim, M.-J.; Choi, Y. K.; Kim, S.; Kim, D.; Han, K.; Ko, S.-B.; Park, J. Highly Enantioselective Dynamic Kinetic Resolution of 1,2−Diarylethanols by a Lipase−Ruthenium Couple, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1295-1298.

(138) Kim, N.; Ko, S.-B.; Kwon, M. S.; Kim, M.-J.; Park, J. Air-stable racemization catalyst for dynamic kinetic resolution of secondary alcohols at room temperature, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4523-4526.

(139) Ko, S.-B.; Baburaj, B.; Kim, M.-J.; Park, J. Air-Stable Racemization Catalysts for the Dynamic Kinetic Resolution of Secondary Alcohols, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 6860-6864.

(140) Barreiros, M. L.; David, J. M.; David, J. P. Utilização de RMN de ^{1}H na determinação da configuração absoluta de álcoois, *Quim. Nova* **2005**, *28*, 1061-1065.

(141) Callam, C. S.; Lowary, T. L. Suzuki cross-coupling reactions: synthesis of unsymmetrical biaryls in the organic laboratory, *J. Chem. Educ.* **2001**, *78*, 947-null.

(142) Salvi, N. A.; Chattopadhyay, S. Studies on *Rhizopus arrhizus* mediated enantioselective reduction of arylalkanones, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 2833-2839.

(143) Nishiyama, H.; Furuta, A. An iron-catalysed hydrosilylation of ketones, *Chem. Commun.* **2007**, 760-762.

(144) Molander, G. A.; Bobbitt, K. L. Keto boronate reduction: 1,7-asymmetric induction, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7517-7518.

(145) Barua, N. C.; Schmidt, R. R. β-Lithioacrylate Equivalents for the Synthesis of (±)-Eldanolide, *Synthesis* **1986**, *1986*, 891,893.

(146) Gotor-Fernández, V.; Busto, E.; Gotor, V. *Candida antarctica* lipase B: An ideal biocatalyst for the preparation of nitrogenated organic compounds, *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 797-812.

(147) Rantwijk, F. v.; Sheldon, R. A. Enantioselective acylation of chiral amines catalysed by serine hydrolases, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 501-519.

(148) Nugent, T. C. *Chiral amine synthesis: Methods, developments and applications*; Wiley-VCH: Weinhein, 2010.

(149) Nugent, T. C.; El-Shazly, M. Chiral amine synthesis – recent developments and trends for enamide reduction, reductive amination, and imine reduction, *Adv.Synth.Catal.* **2010**, *352*, 753-819.

(150) Balkenhohl, F.; Hauer, B.; Ladner, W.; Pressler, U.; Nubling, C. Resolution of the racemates of primary and secondary amines by enzyme-catalyzed acylation. U.S. 5728876, 1998.

(151) Takayama, S.; Lee, S. T.; Hung, S.-C.; Wong, C.-H. Designing enzymatic resolution of amines, *Chem. Commun.* **1999**, 127-128.

(152) Meudt, A.; Lehnemann, B.; Scherer, S.; Kalinin, A.; Snieckus, V. Process for the preparation of aniline boronic acids and derivatives thereof. US 20050038287, 2005.

(153) Wood, M. R.; Anthony, N. J.; Bock, M. G.; Feng, D.-M.; Kuduk, S. D.; Su, D.-S.; Wai, J. M. N-biphenyl(substituted methyl) aminocycloalkane-carboxamide derivatives. US 2003/220375, 2003.

(154) Miriyala, B.; Bhattacharyya, S.; Williamson, J. S. Chemoselective reductive alkylation of ammonia with carbonyl compounds: synthesis of primary and symmetrical secondary amines, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 1463-1471.

(155) Cammenberg, M.; Hult, K.; Park, S. Molecular basis for the enhanced lipase-catalyzed *N*-acylation of 1-phenylethanamine with methoxyacetate, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 1745-1749.

(156) Ismail, H.; Lau, R. M.; Rantwijk, F. v.; Sheldon, R. A. Fully enzymatic resolution of chiral amines: acylation and deacylation in the presence of *Candida antarctica* lipase B, *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 1511-1516.

(157) Sun, J.-H.; Dai, R.-J.; Meng, W.-W.; Deng, Y.-l. Efficient enzymatic kinetic resolution of 2-heptylamine with a highly active acyl donor, *Catal. Commun.* **2010**, *11*, 987-991.

(158) Liu, Y.; Ding, K. Modular monodentate phosphoramidite ligands for rhodium-catalyzed enantioselective hydrogenation, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10488-10489.

(159) Wu, H.; Hynes, J. Copper-catalyzed chlorination of functionalized arylboronic acids, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1192-1195.

(160) Ikariya, T.; Blacker, A. J. Asymmetric transfer hydrogenation of ketones with bifunctional transition metal-based molecular catalysts, *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 1300-1308.

(161) Cho, B. T. Recent development and improvement for boron hydride-based catalytic asymmetric reduction of unsymmetrical ketones, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 443-452.

(162) Wildeman, S. M. A. D.; Sonke, T.; Schoemaker, H. E.; May, O. Biocatalytic reductions: from lab curiosity to “first choice”, *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 1260-1266.

(163) Kataoka, M.; Kita, K.; Wada, M.; Yasohara, Y.; Hasegawa, J.; Shimizu, S. Novel bioreduction system for the production of chiral alcohols, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2003**, *62*, 437-445.

(164) Goldberg, K.; Schroer, K.; Lütz, S.; Liese, A. Biocatalytic ketone reduction—a powerful tool for the production of chiral alcohols—part II: whole-cell reductions, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, *76*, 249-255.

(165) Matsuda, T.; Yamanaka, R.; Nakamura, K. Recent progress in biocatalysis for asymmetric oxidation and reduction, *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 513-557.

(166) Prelog, V. Specification of the stereospecificity of some oxido-reductases by diamond lattice sections, *Pure Appl. Chem.* **1964**, *9*, 119-130.

(167) Andrade, L. H.; Polak, R.; Porto, A. L. M.; Schoenlein-Crusius, I. H.; Comasseto, J. V. Application of bioreduction by microorganisms in the enantioselective synthesis of alpha-substituted-1-phenylethanols *Lett. Org. Chem.* **2006**, *3*, 613-618.

(168) Bradshaw, C. W.; Hummel, W.; Wong, C. H. Lactobacillus kefir alcohol dehydrogenase: a useful catalyst for synthesis, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1532-1536.

(169) Tojo, G. *Oxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones: A Guide to Current Common Practice*; Springer Science: New York, 2006.

(170) Edegger, K.; Gruber, C. C.; Poessl, T. M.; Wallner, S. R.; Lavandera, I.; Faber, K.; Niehaus, F.; Eck, J.; Oehrlein, R.; Hafner, A.; Kroutil, W. Biocatalytic deuterium- and hydrogen-transfer using over-expressed ADH-'A': enhanced stereoselectivity and 2H-labeled chiral alcohols, *Chem. Commun.* **2006**, 2402-2404.

(171) Lavandera, I. n.; Kern, A.; Ferreira-Silva, B.; Glieder, A.; de Wildeman, S.; Kroutil, W. Stereoselective bioreduction of bulky-bulky ketones by a novel ADH from *Ralstonia sp*, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6003-6005.

(172) Ernst, M.; Kaup, B.; Müller, M.; Bringer-Meyer, S.; Sahm, H. Enantioselective reduction of carbonyl compounds by whole-cell biotransformation, combining a formate dehydrogenase and a (<i>R</i>)-specific alcohol dehydrogenase, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, *66*, 629-634.

(173) Stampfer, W.; Kosjek, B.; Moitzi, C.; Kroutil, W.; Faber, K. Biocatalytic asymmetric hydrogen transfer, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, *41*, 1014-1017.

(174) Stampfer, W.; Kosjek, B.; Faber, K.; Kroutil, W. Biocatalytic asymmetric hydrogen transfer employing *Rhodococcus ruber* DSM 44541, *J. Org. Chem.* **2002**, *68*, 402-406.

(175) Stampfer, W.; Edegger, K.; Kosjek, B.; Faber, K.; Kroutil, W. Simple biocatalytic access to enantiopure (*S*)-1-heteroarylethanols employing a microbial hydrogen transfer reaction, *Adv. Synth. Catal.* **2004**, *346*, 57-62.

(176) Poessl, T. M.; Kosjek, B.; Ellmer, U.; Gruber, C. C.; Edegger, K.; Faber, K.; Hildebrandt, P.; Bornscheuer, U. T.; Kroutil, W. Non-racemic halohydrins via biocatalytic hydrogen-transfer reduction of halo-ketones and one-pot cascade reaction to enantiopure epoxides, *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1827-1834.

(177) de Gonzalo, G.; Lavandera, I.; Faber, K.; Kroutil, W. Enzymatic reduction of ketones in “micro-aqueous” media catalyzed by ADH-A from *Rhodococcus ruber*, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2163-2166.

(178) Kosjek, B.; Stampfer, W.; Pogorevc, M.; Goessler, W.; Faber, K.; Kroutil, W. Purification and characterization of a chemotolerant alcohol dehydrogenase applicable to coupled redox reactions, *Biotechnol. Bioeng.* **2004**, *86*, 55-62.

(179) Wrackmeyer, B. Carbon-13 NMR spectroscopy of boron compounds, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1979**, *12*, 227-259.

(180) Smith, W. L. Boron-11 nmr, *J. Chem. Educ.* **1977**, *54*, 469-473.

(181) Harris, R. K.; Becker, E. D.; Menezes, S. M. C. d.; Goodfellow, R.; Granger, P. NMR nomenclature. Nuclear spin properties and conventions for chemical shifts (IUPAC Recommendations 2001), *Pure Appl. Chem.* **2001**, *73*, 1795–1818.

(182) Armarego, W. L. F.; Chai, C. L. L. *Purification of laboratory chemicals*; 6 ed.; Elsevier: Burlington, 2009.

(183) Murata, M.; Oyama, T.; Watanabe, S.; Masuda, Y. Palladium-catalyzed borylation of aryl halides or triflates with dialkoxyborane: A novel and facile synthetic route to arylboronates, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 164-168.

(184) Shi, B.; Boyle, R. W. Synthesis of unsymmetrically substituted meso-phenylporphyrins by Suzuki cross coupling reactions, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2002**, 1397-1400.

(185) Kitamura, Y.; Sakurai, A.; Udzu, T.; Maegawa, T.; Monguchi, Y.; Sajiki, H. Heterogeneous Pd/C-catalyzed ligand-free Suzuki-Miyaura coupling reaction using aryl boronic esters, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 10596-10602.

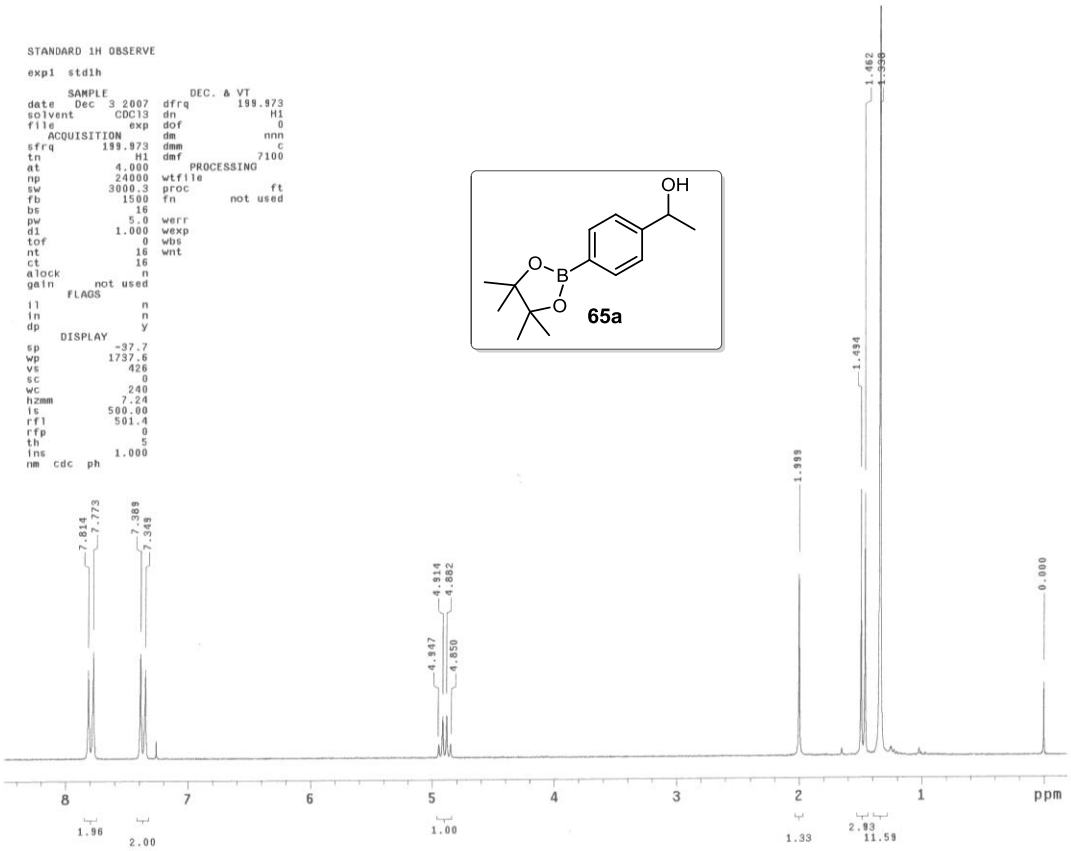
(186) Pietruszka, J.; Schöne, N. New 1,3-Disubstituted Enantiomerically Pure Allylboronic Esters by Johnson Rearrangement of Boron-Substituted Allyl Alcohols, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *2004*, 5011-5019.

(187) Movassaghi, M.; Hunt, D. K.; Tjandra, M. Total Synthesis and Absolute Stereochemical Assignment of (+)- and (−)-Galbulimima Alkaloid 13, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8126-8127.

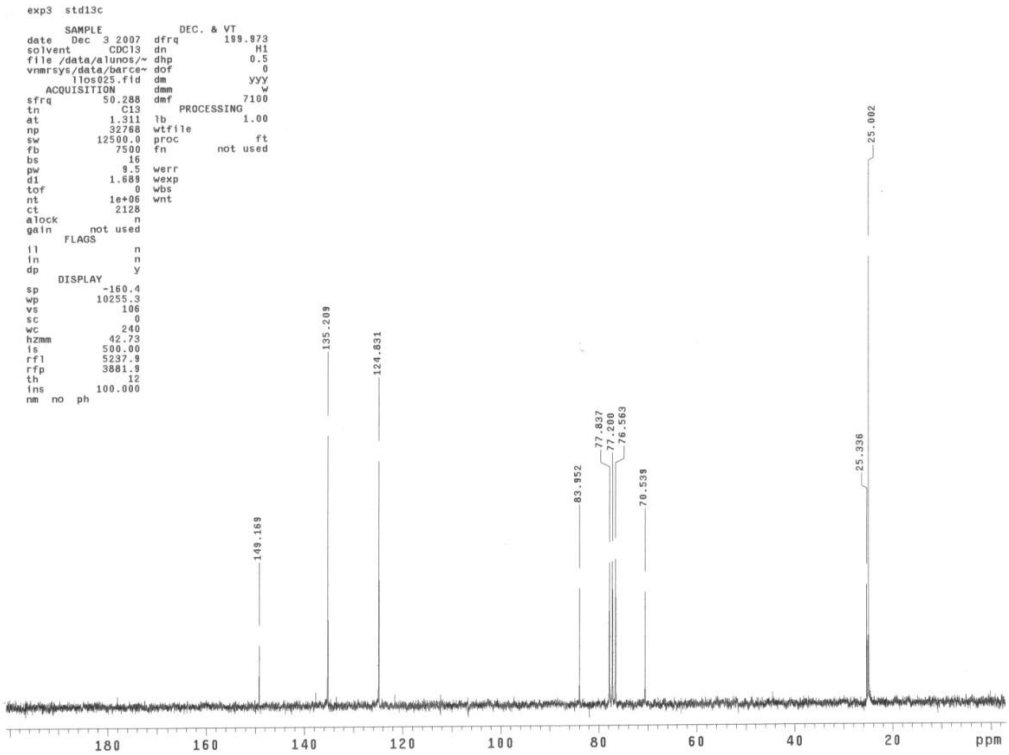
(188) Bouziane, A.; Carboni, B.; Bruneau, C.; Carreaux, F.; Renaud, J.-L. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 11745-11750.

(189) Kourist, R.; González-Sabín, J.; Liz, R.; Rebolledo, F. Kinetic resolution of 1-biaryl- and 1-(pyridylphenyl)alkan-1-ols catalysed by the lipase B from *Candida antarctica*, *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 695-702.

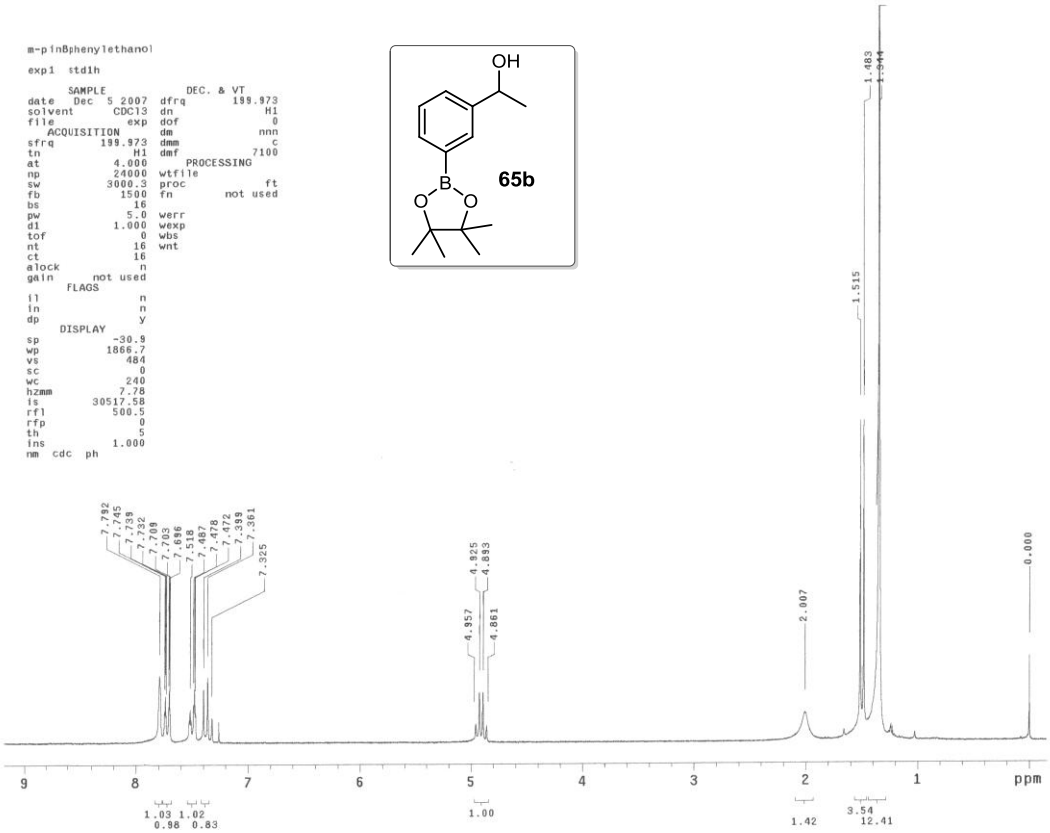
10. Espectros Selecionados



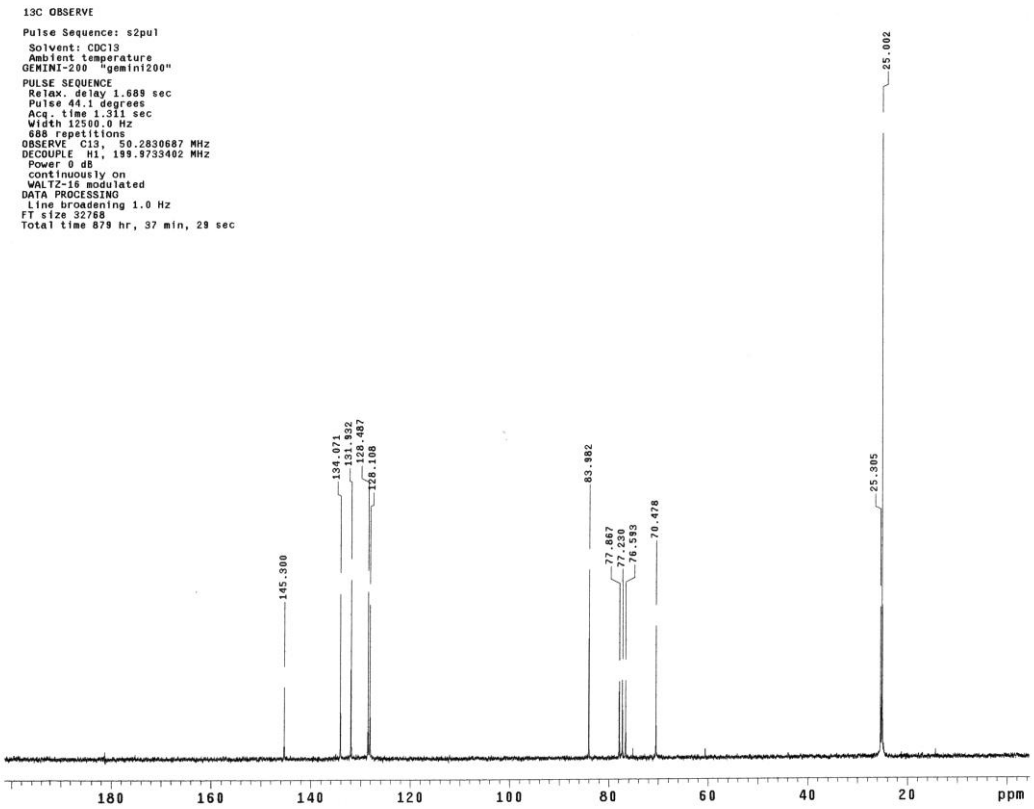
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **65a**



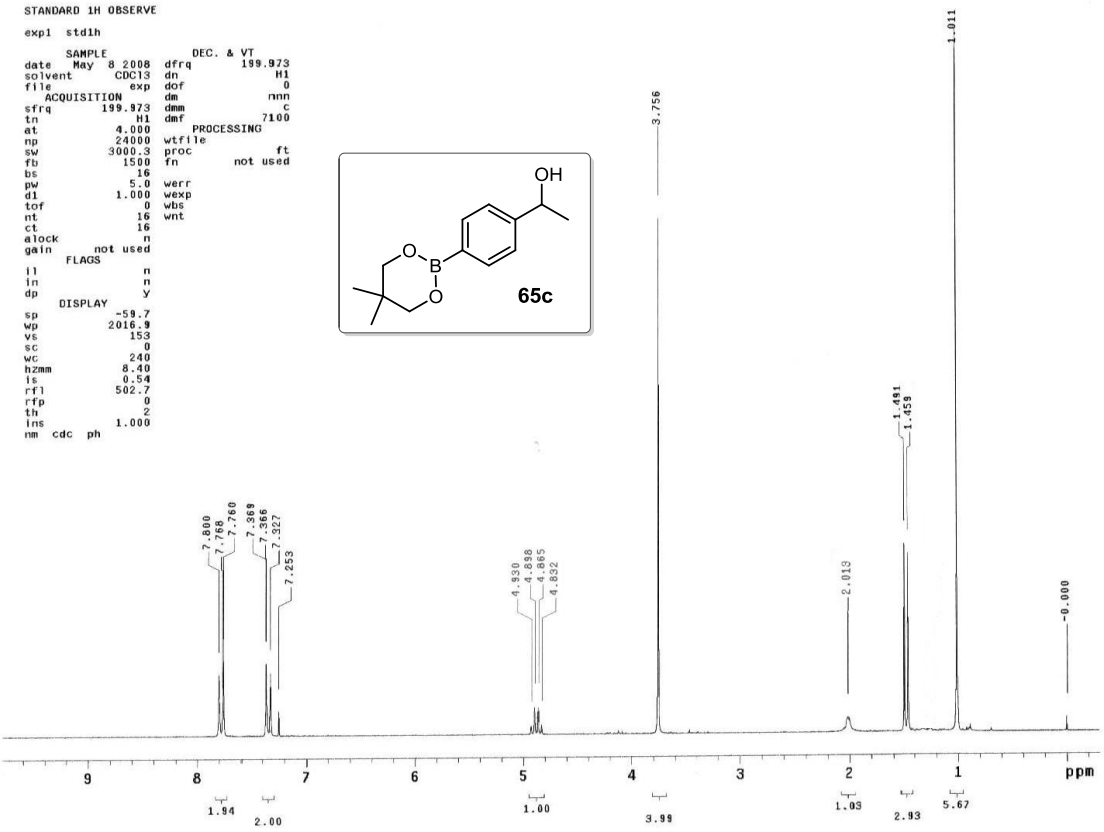
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **65a**



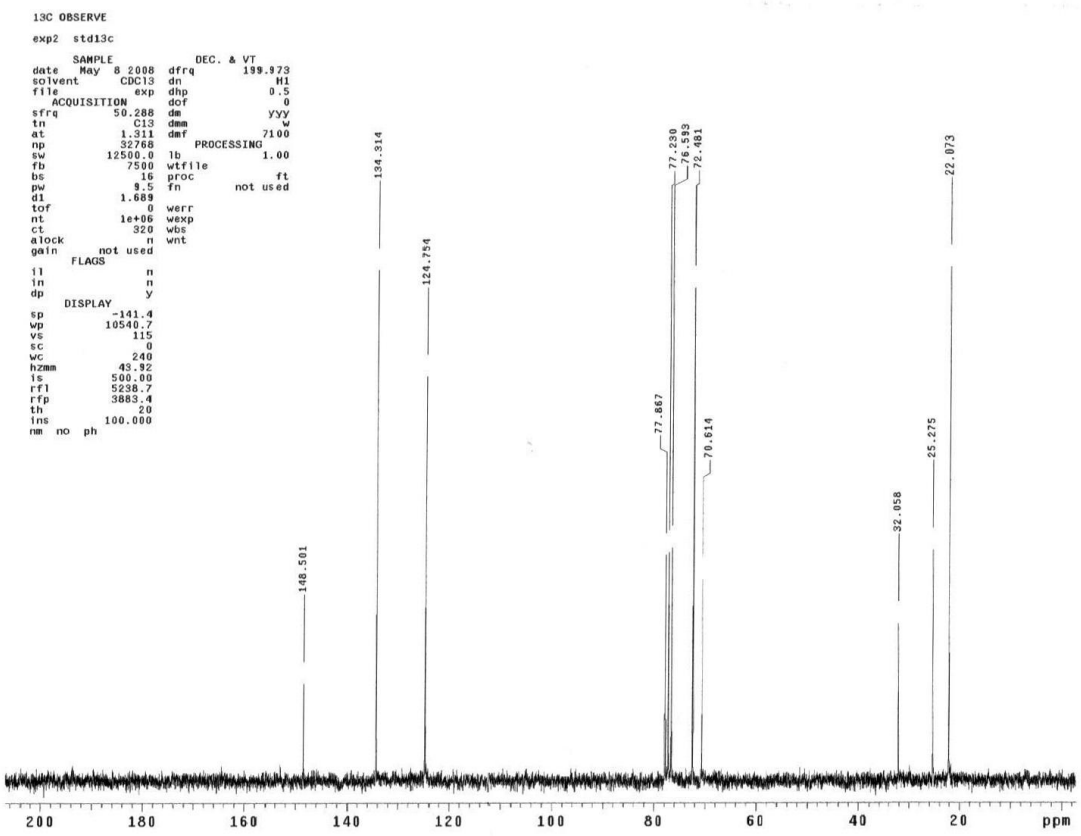
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **65b**



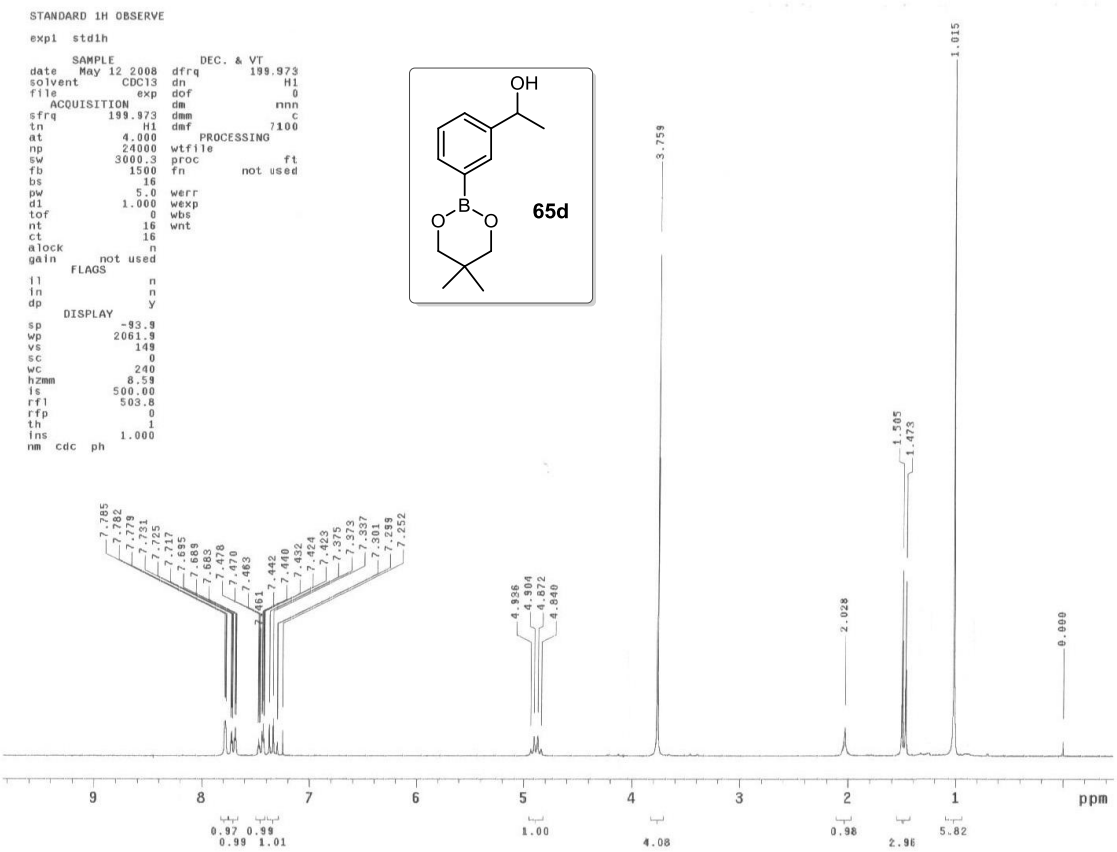
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **65b**



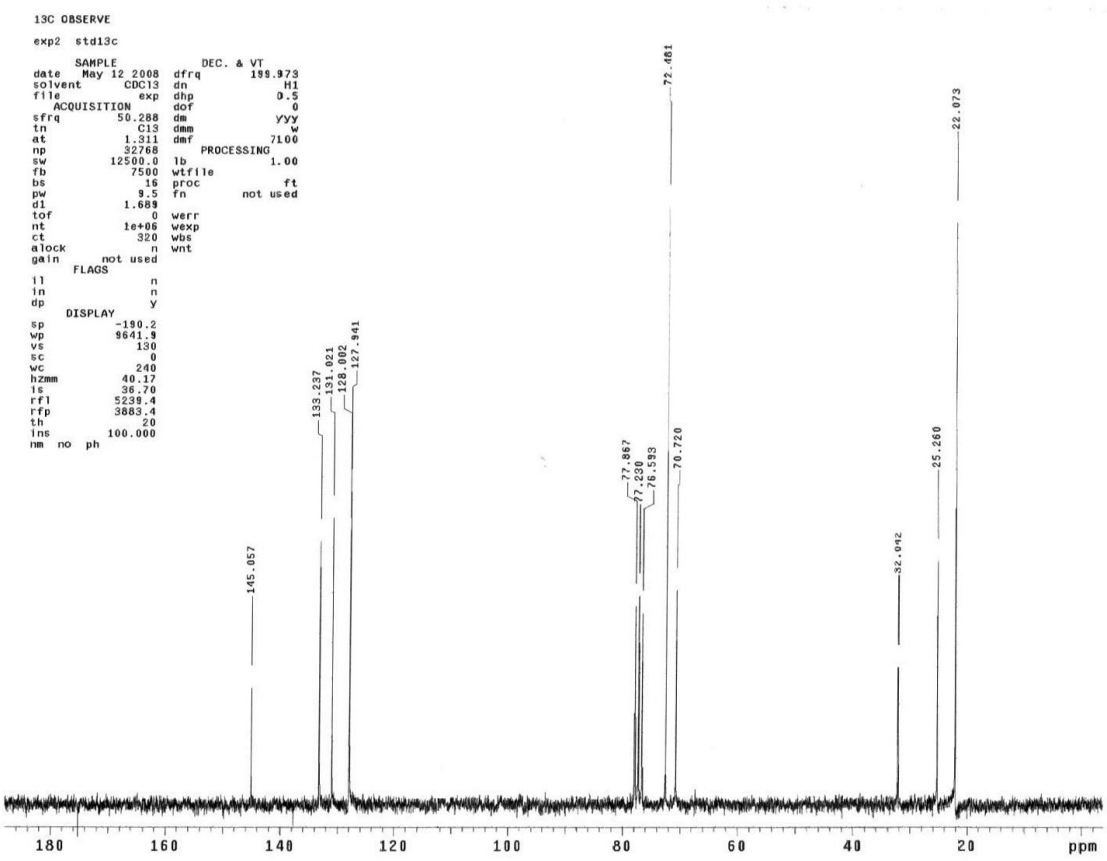
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **65c**



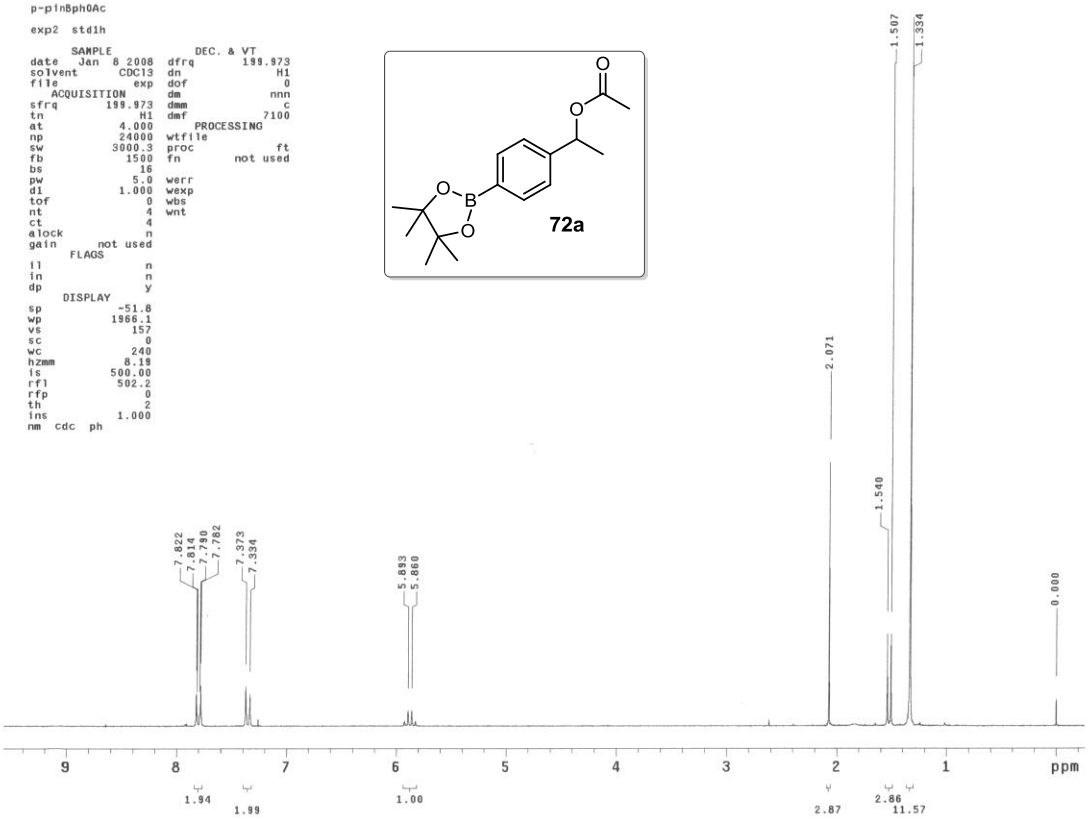
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **65c**



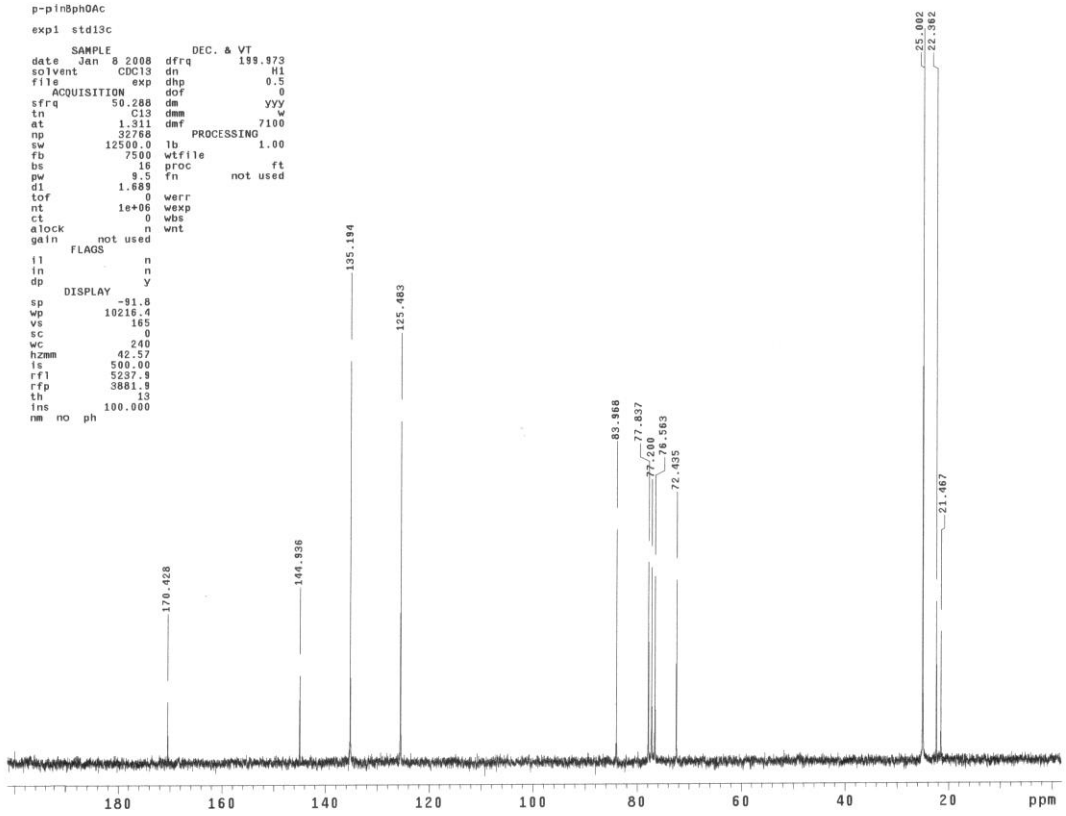
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **65d**



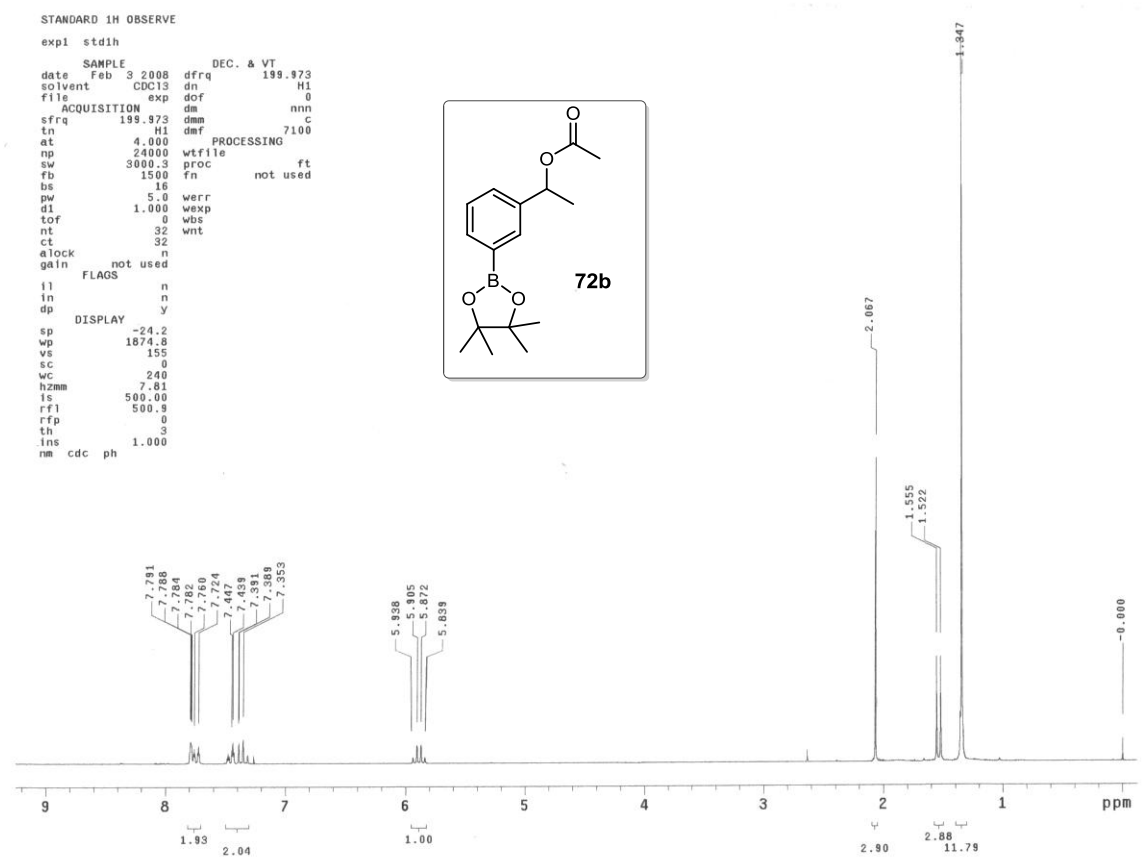
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **65d**



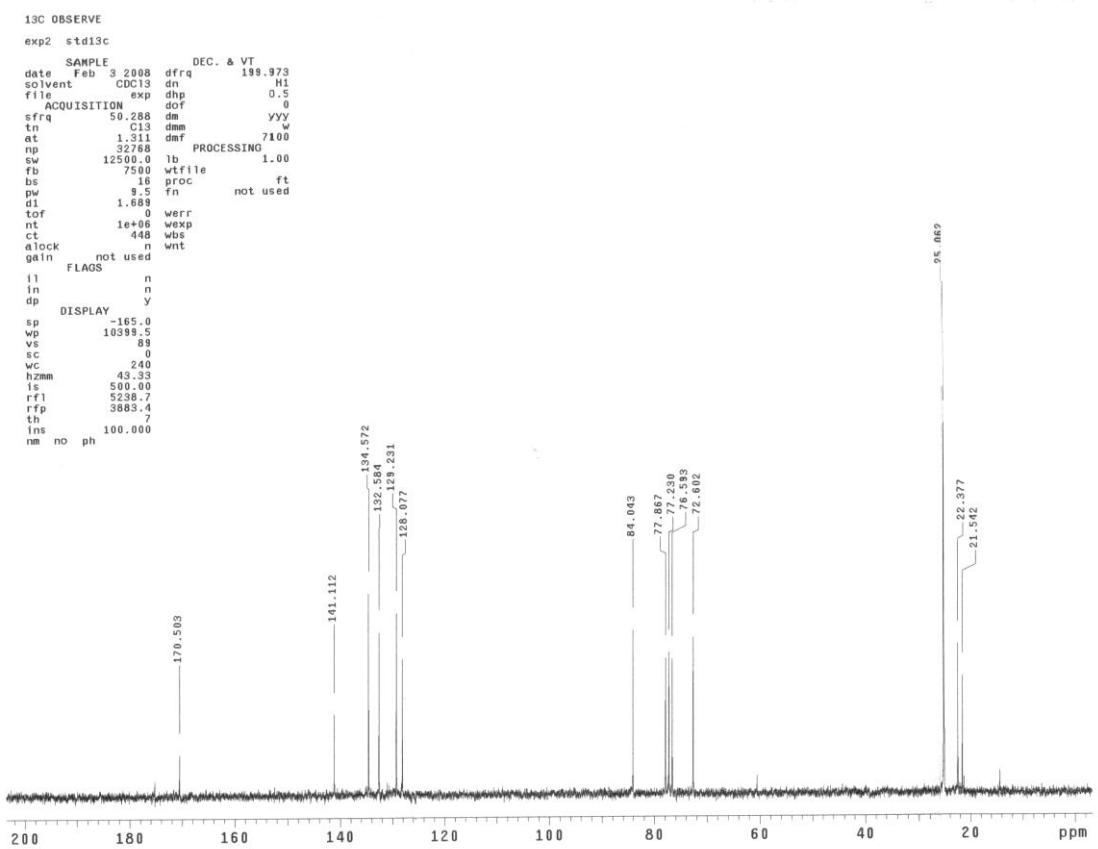
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **72a**



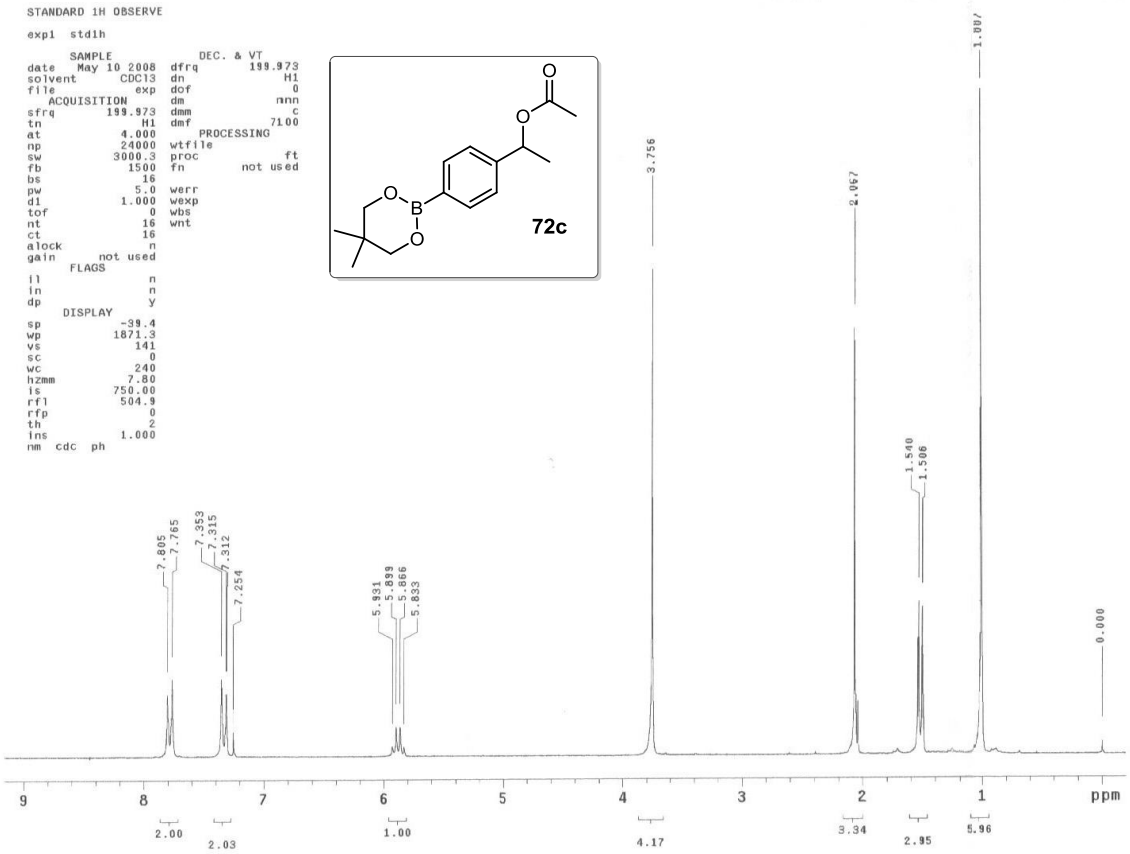
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **72ª**



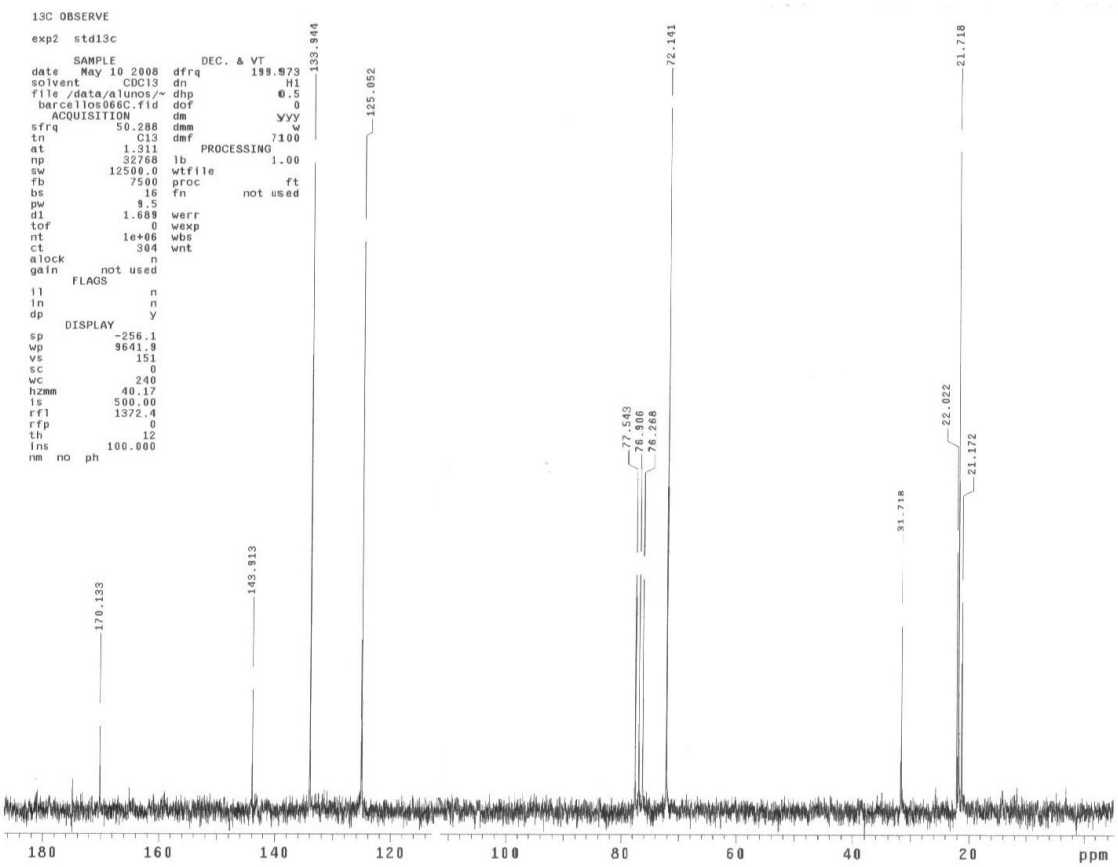
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **72b**



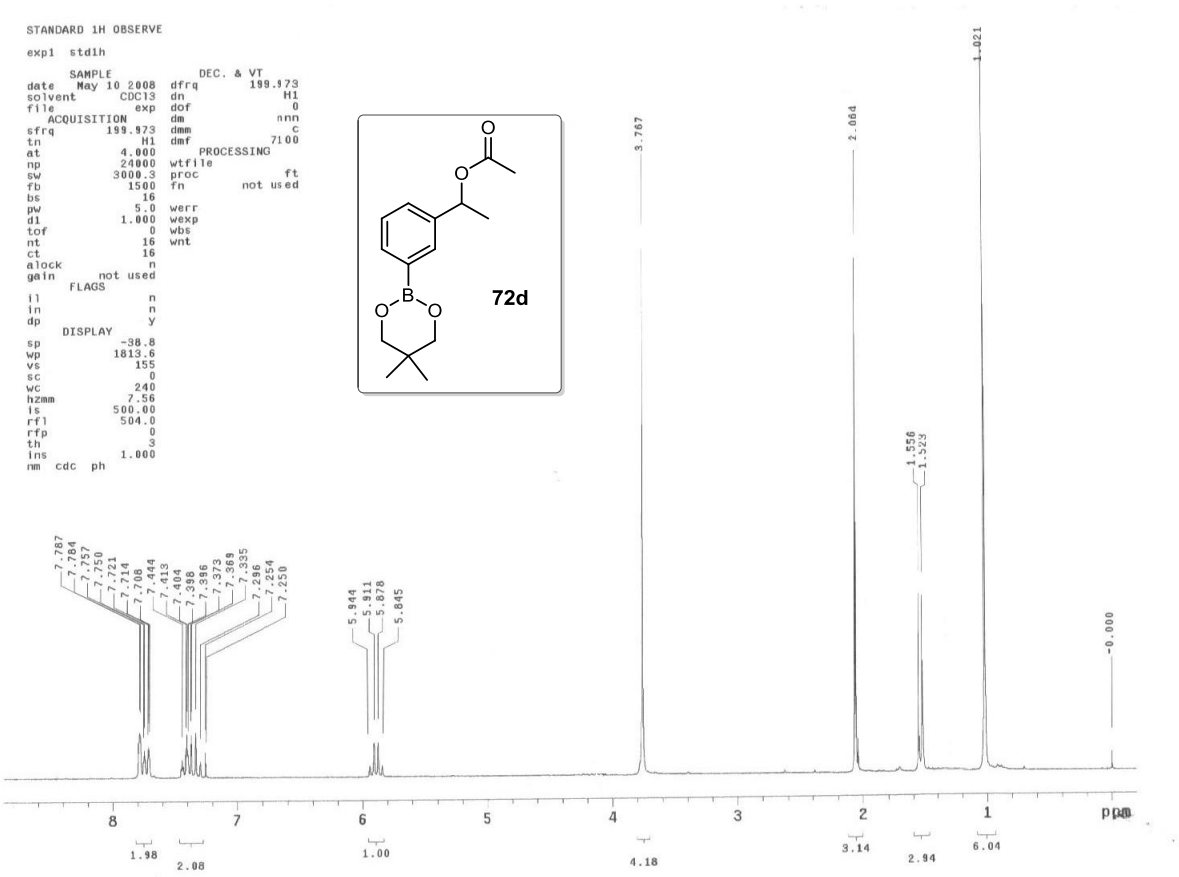
Espectro de RMN de ^{13}H (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **72b**



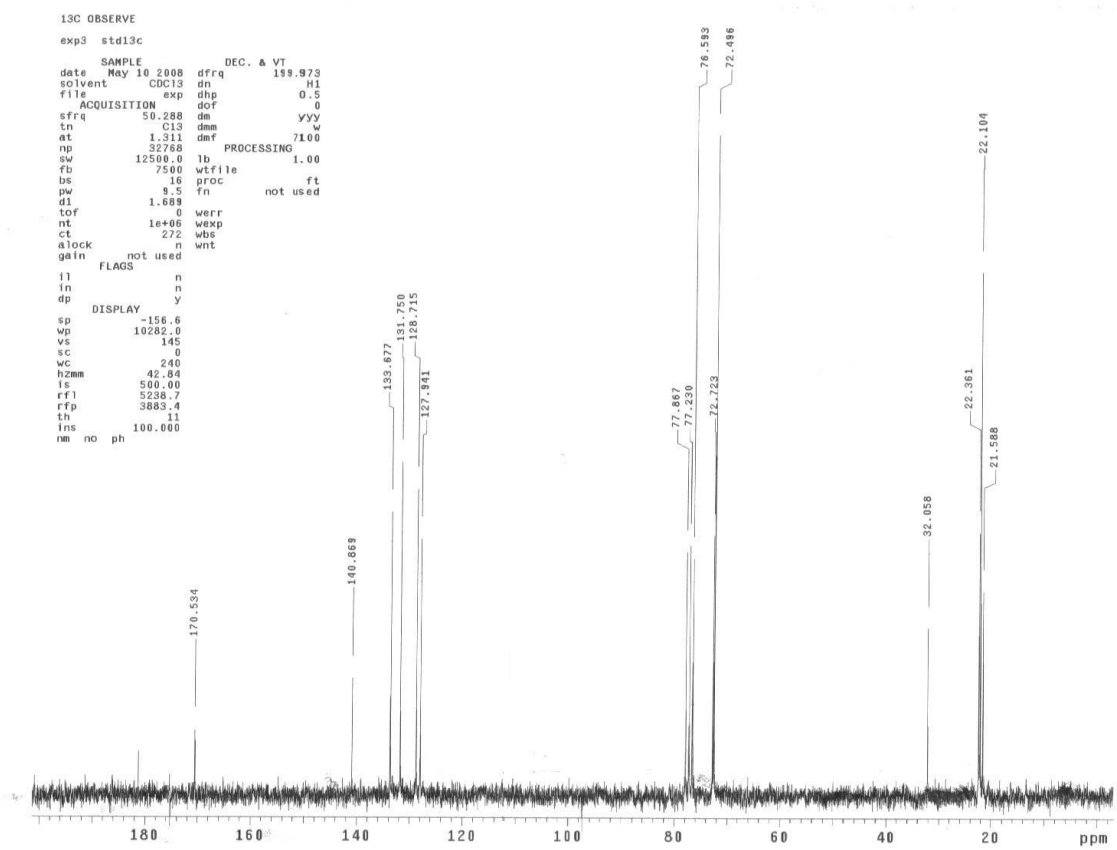
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **72c**



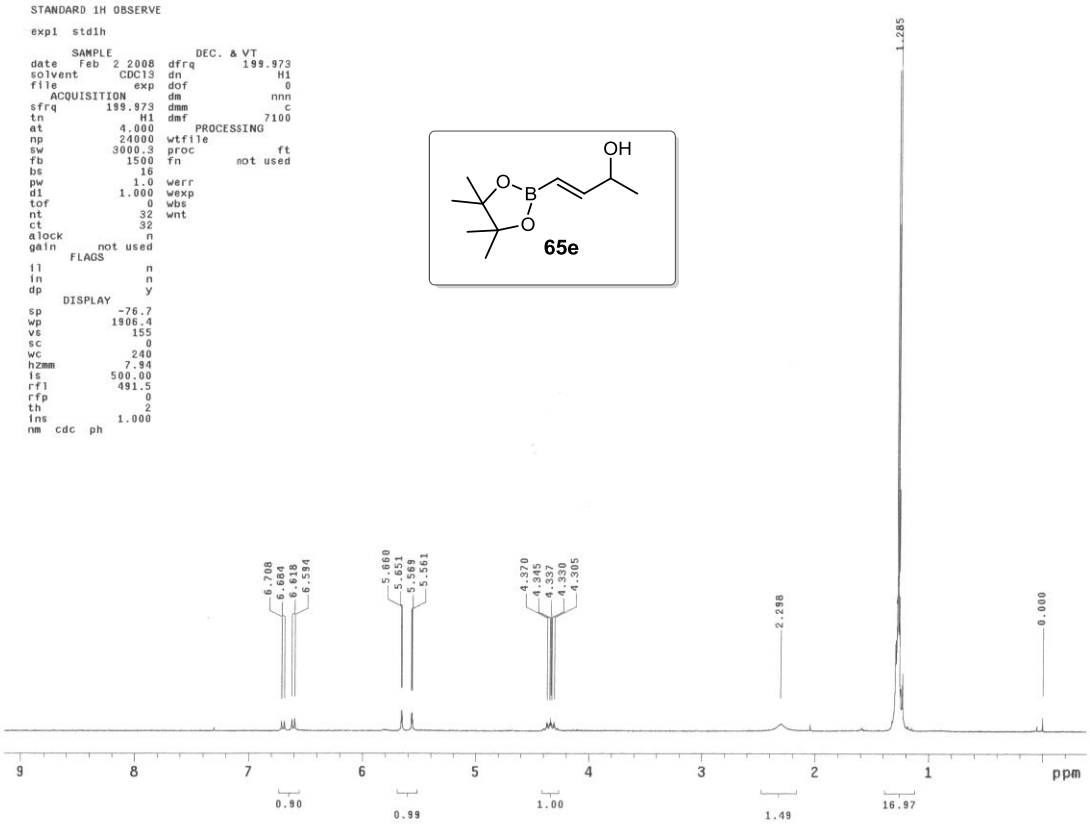
Espectro de RMN de ^{13}H (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **72c**



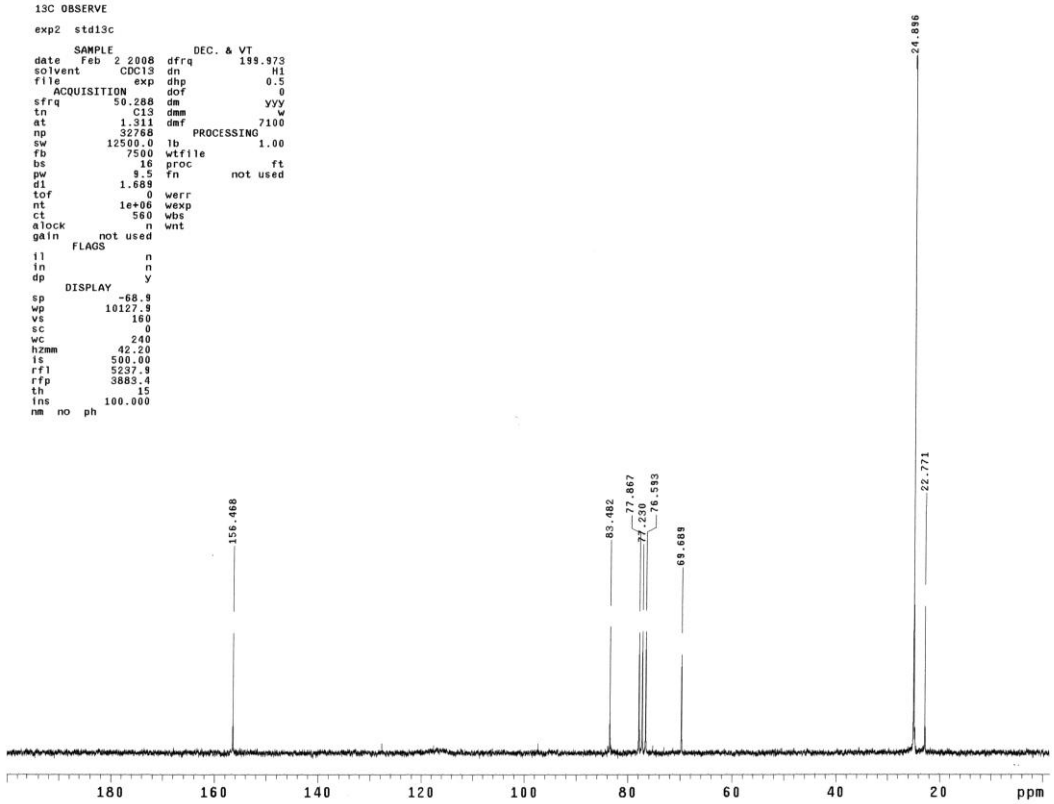
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **72d**



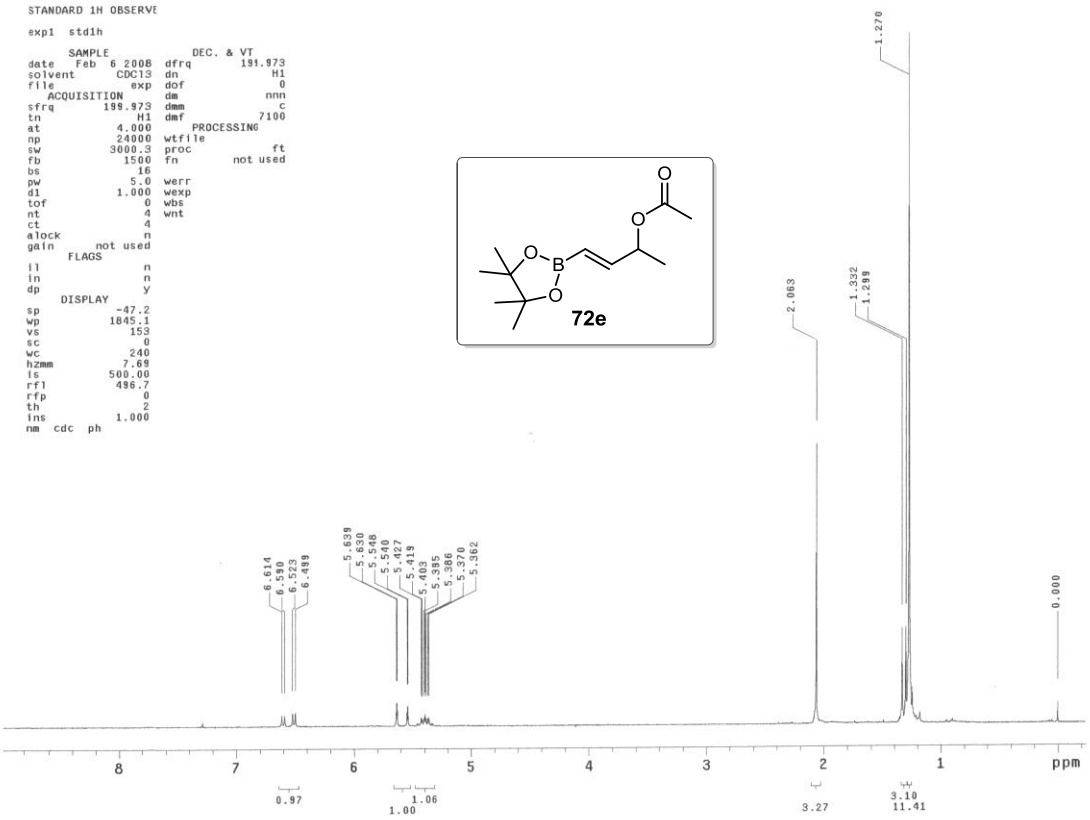
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **72d**



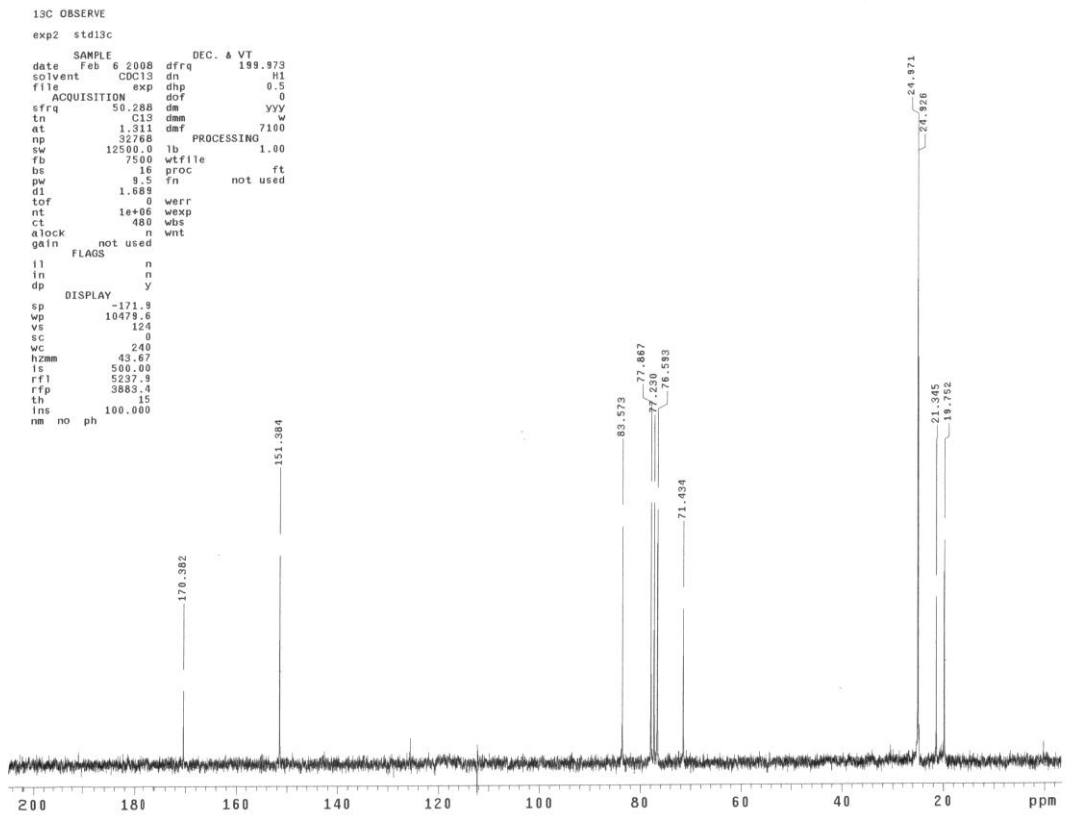
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **65e**



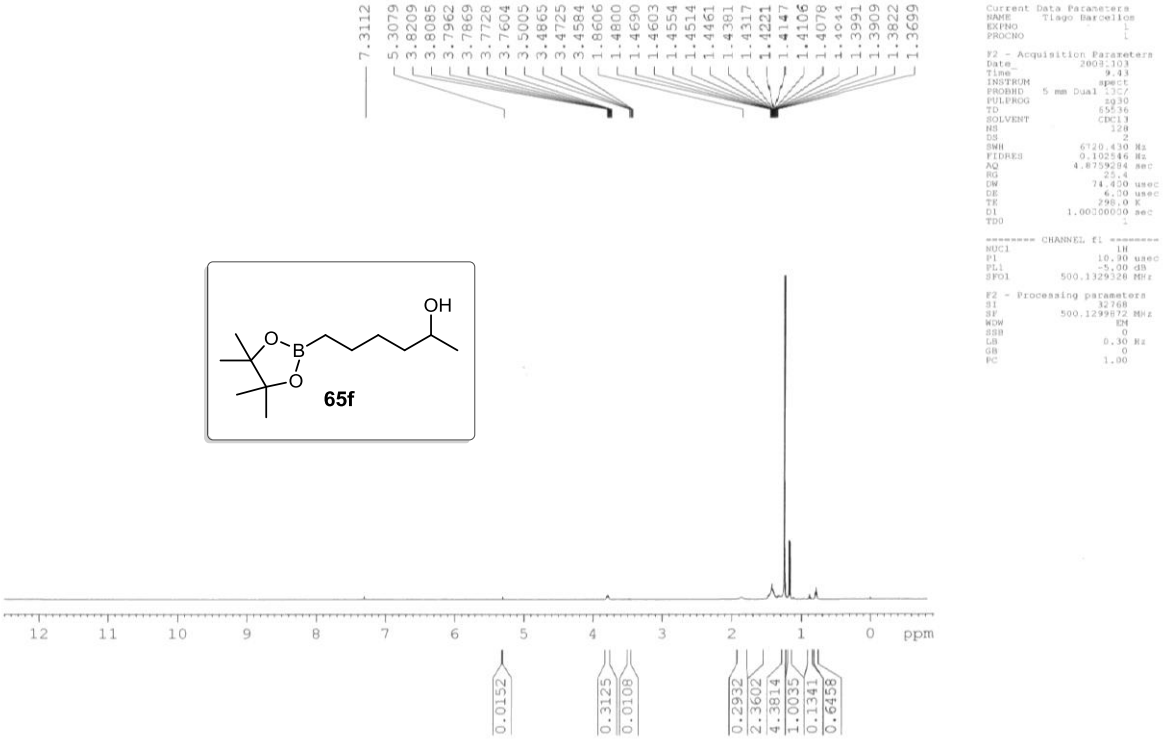
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **65e**



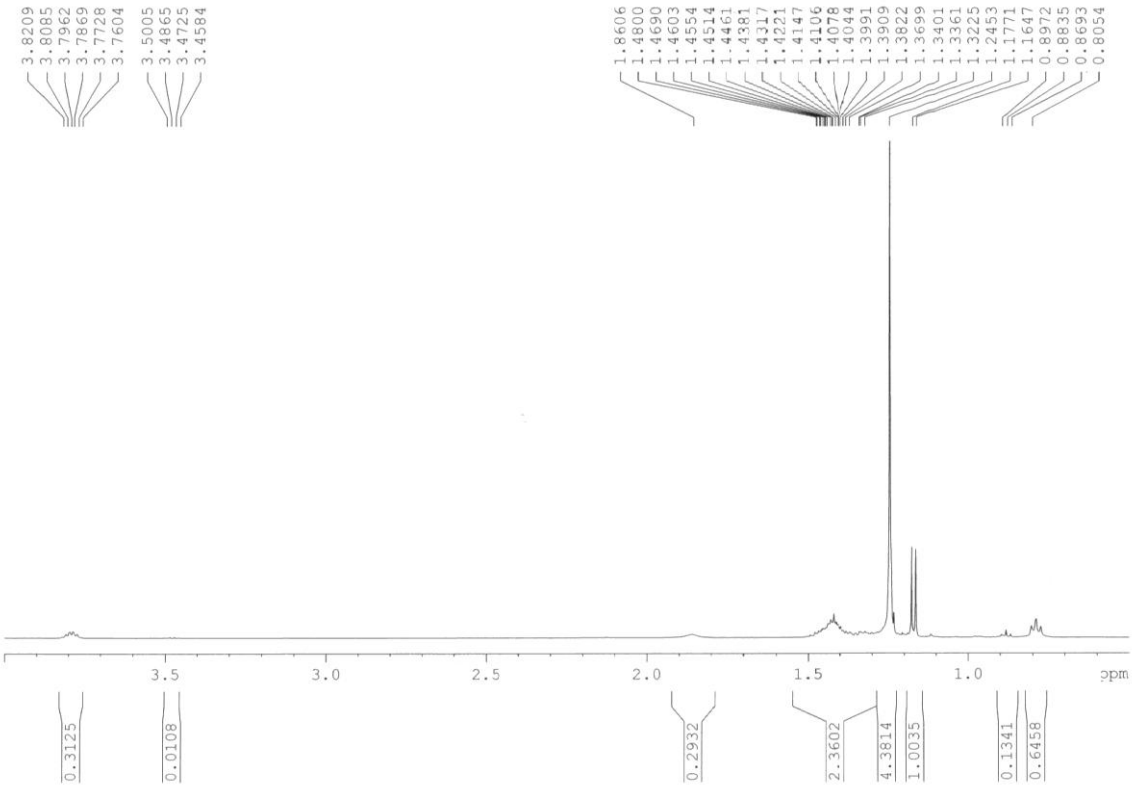
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **72e**



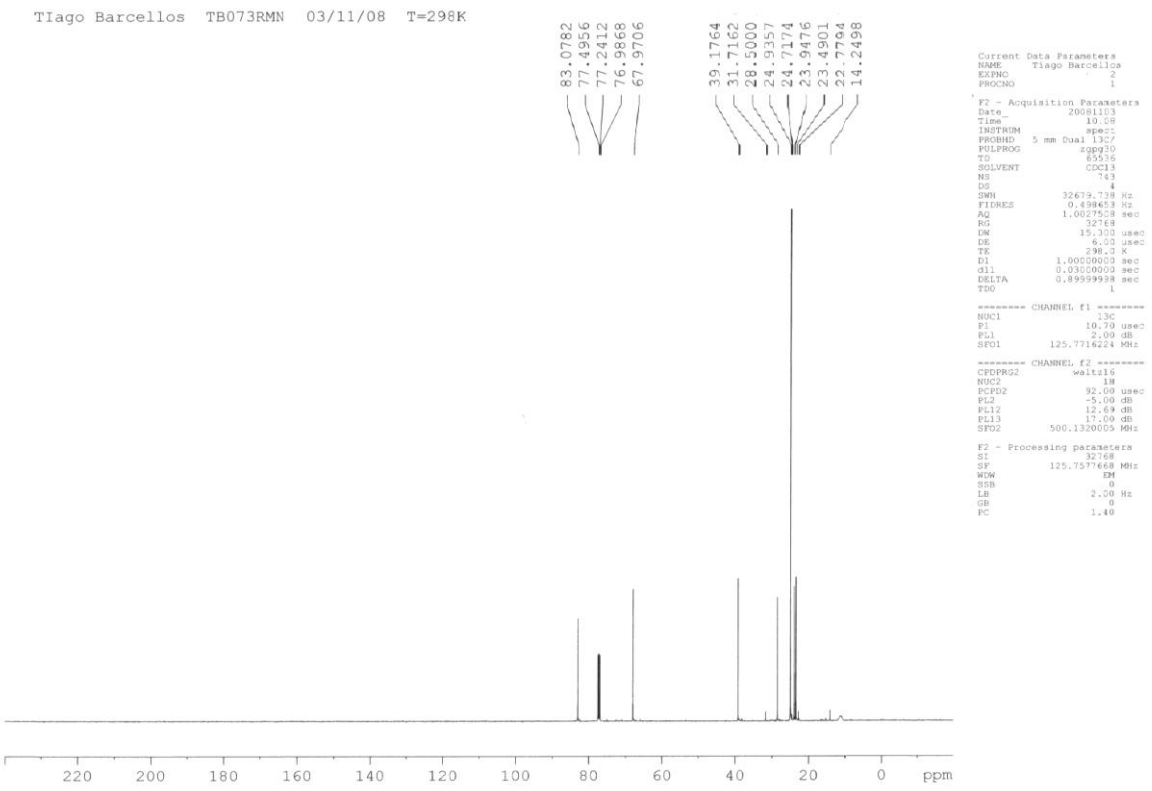
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **72e**



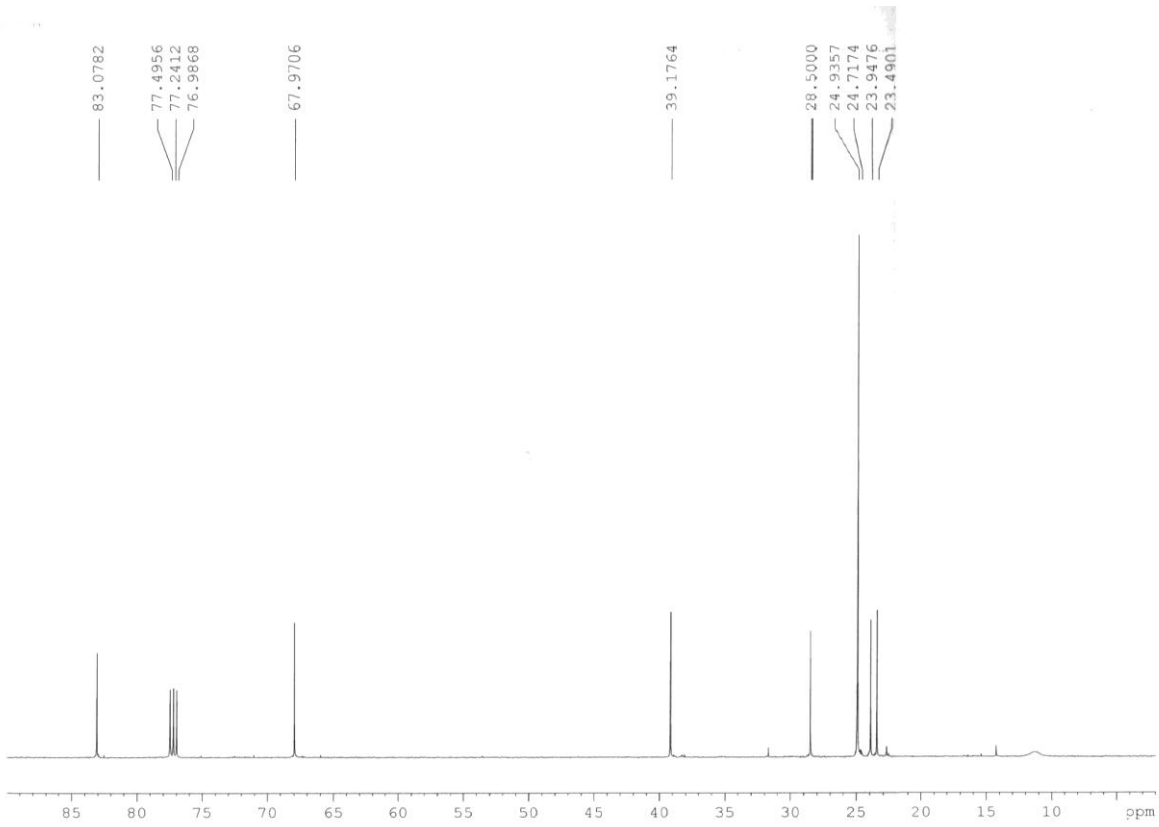
Espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) do composto **65f**



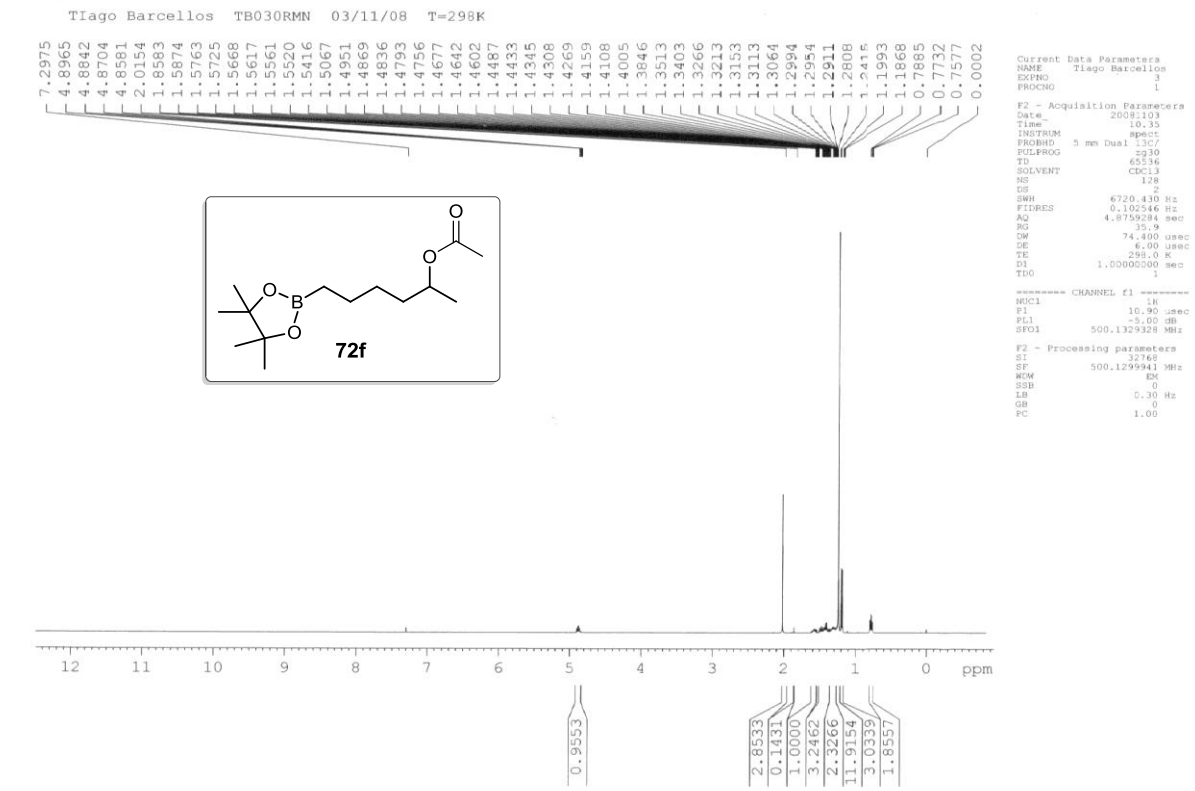
Espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) do composto **65f** (expansão)



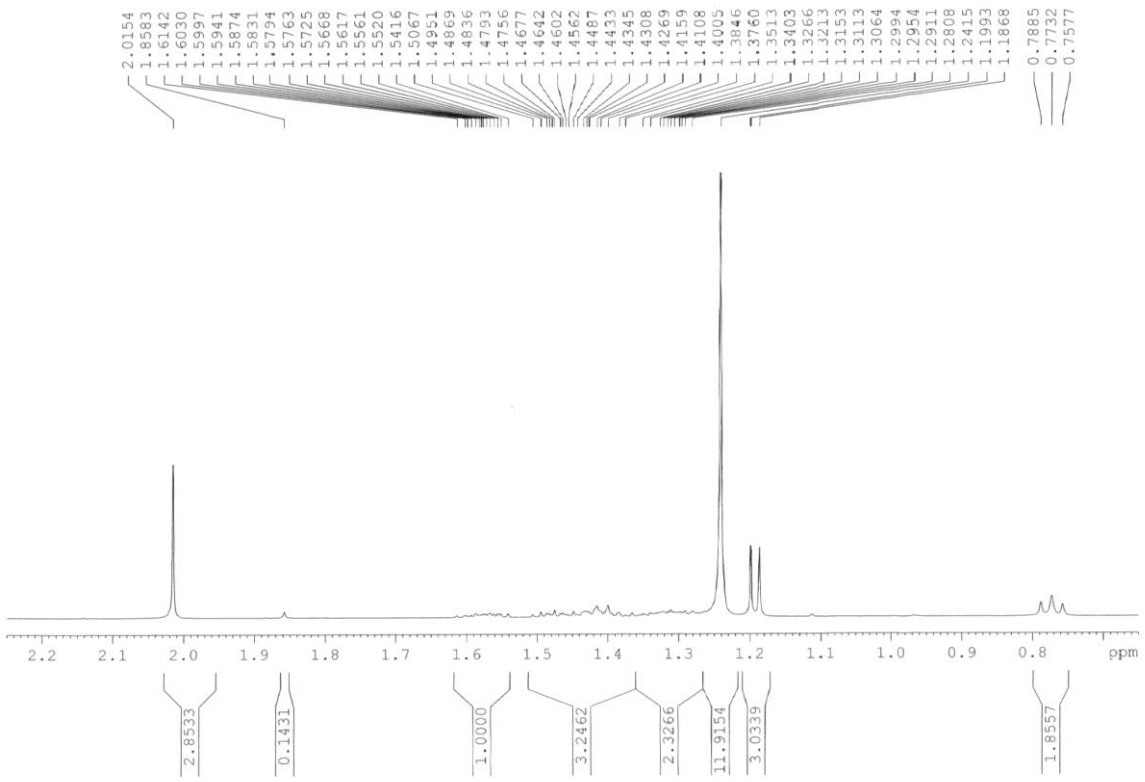
Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) do composto **65f**



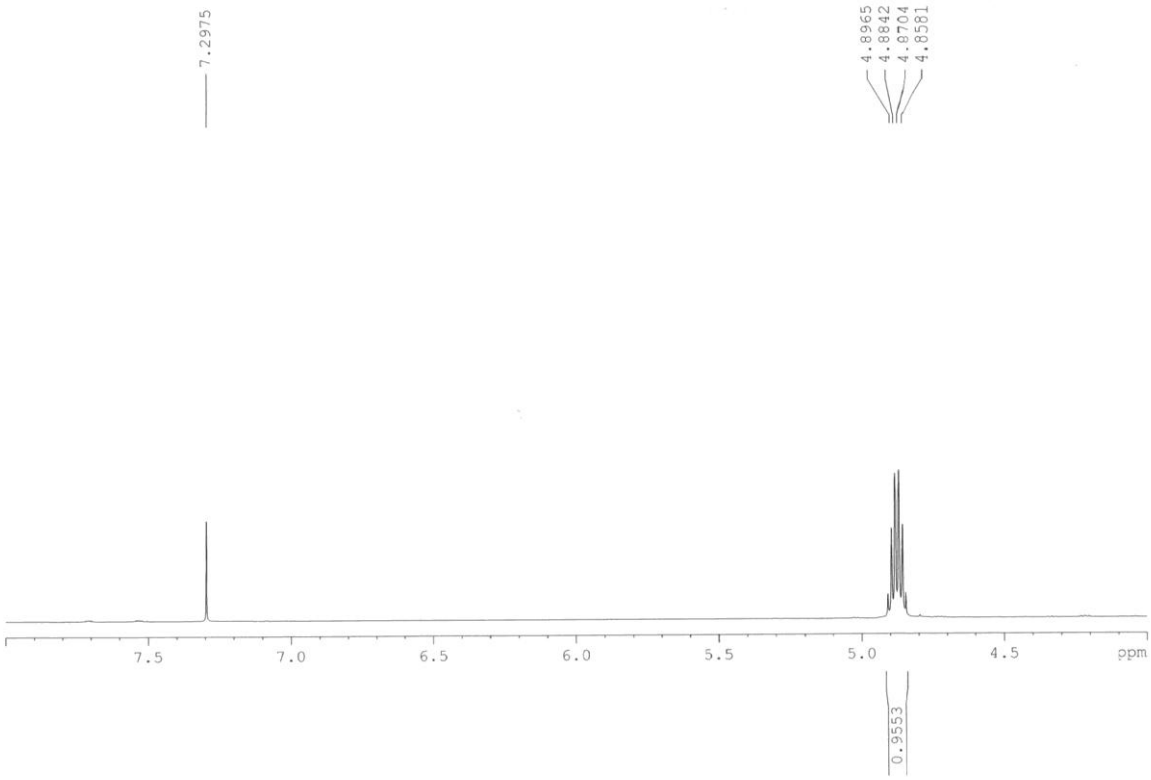
Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) do composto **65f** (expansão)



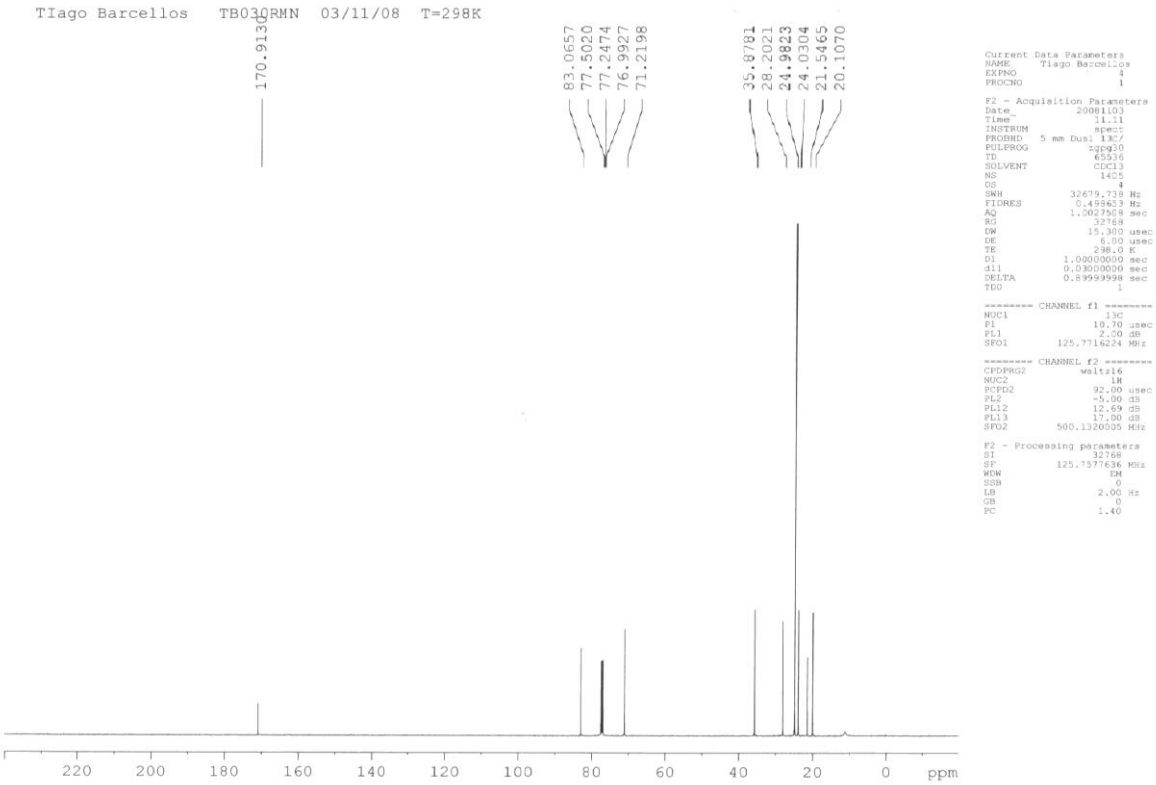
Espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) do composto **72f**



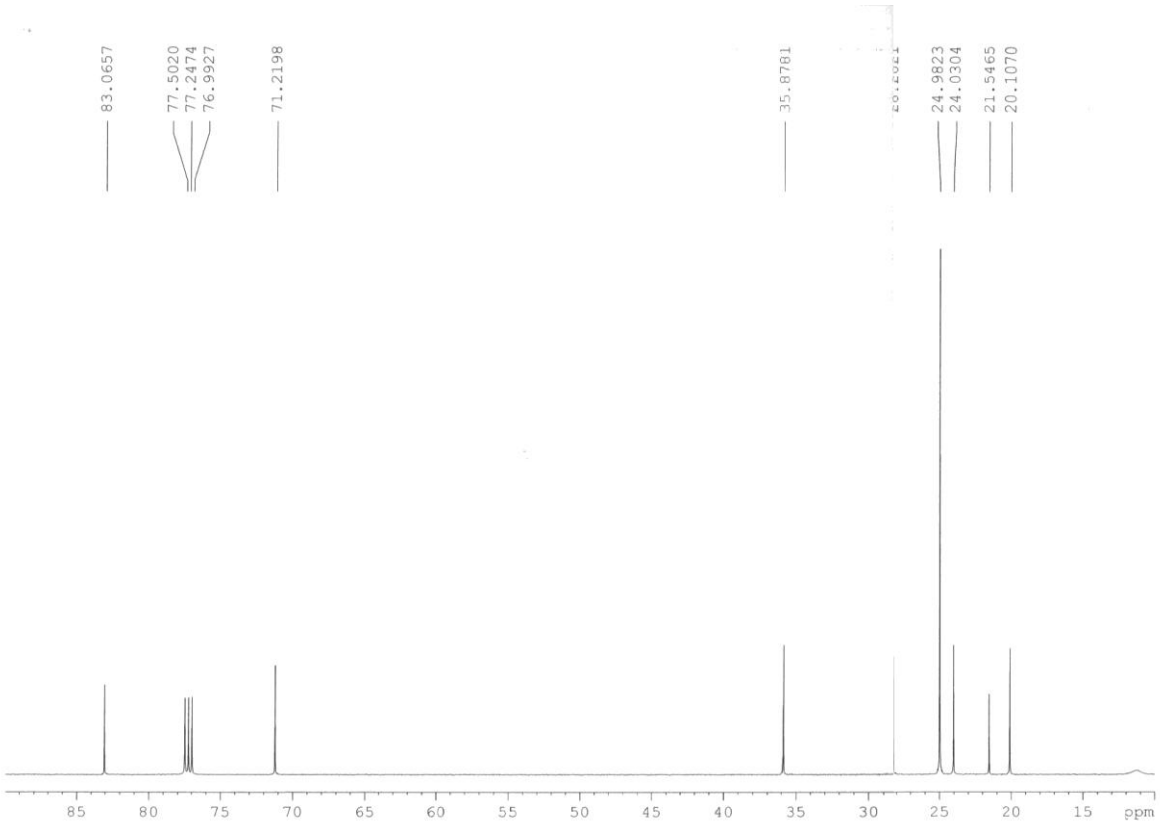
Espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) do composto **72f** (expansão)



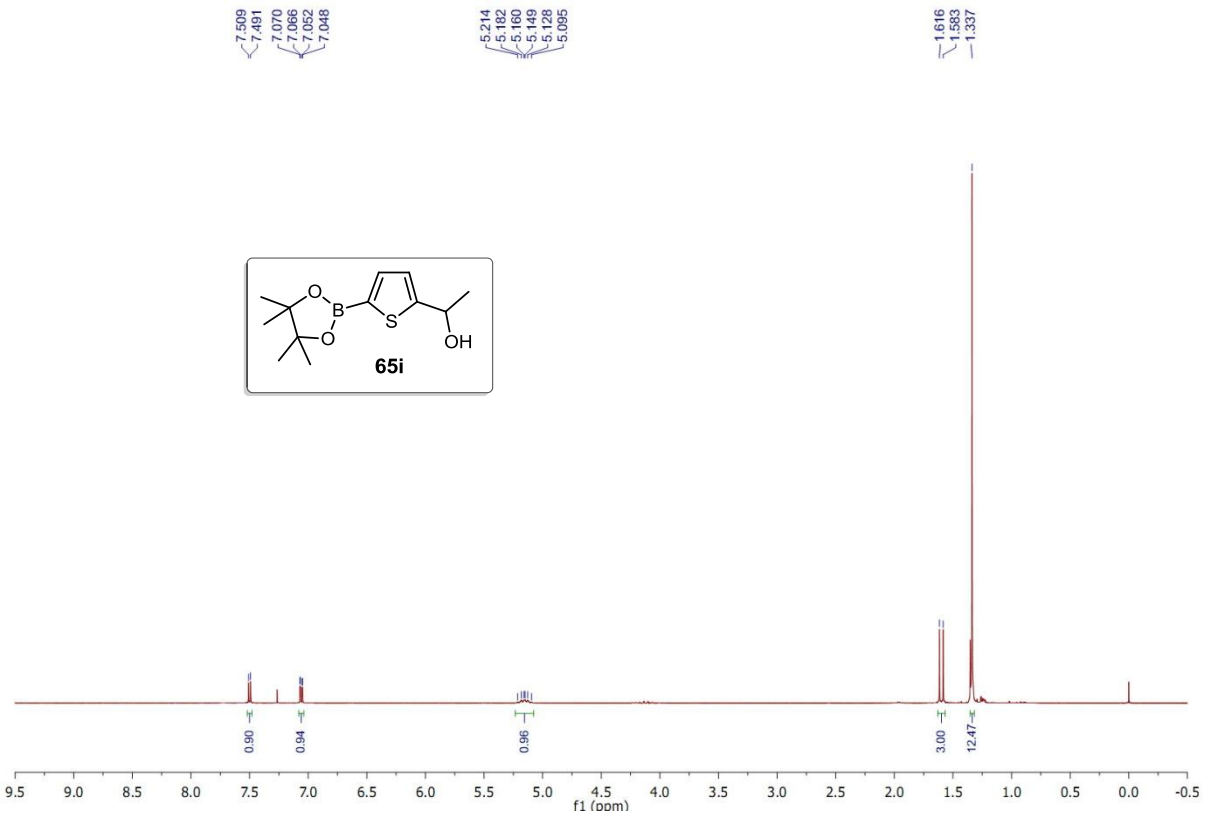
Espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) do composto **72f** (expansão)



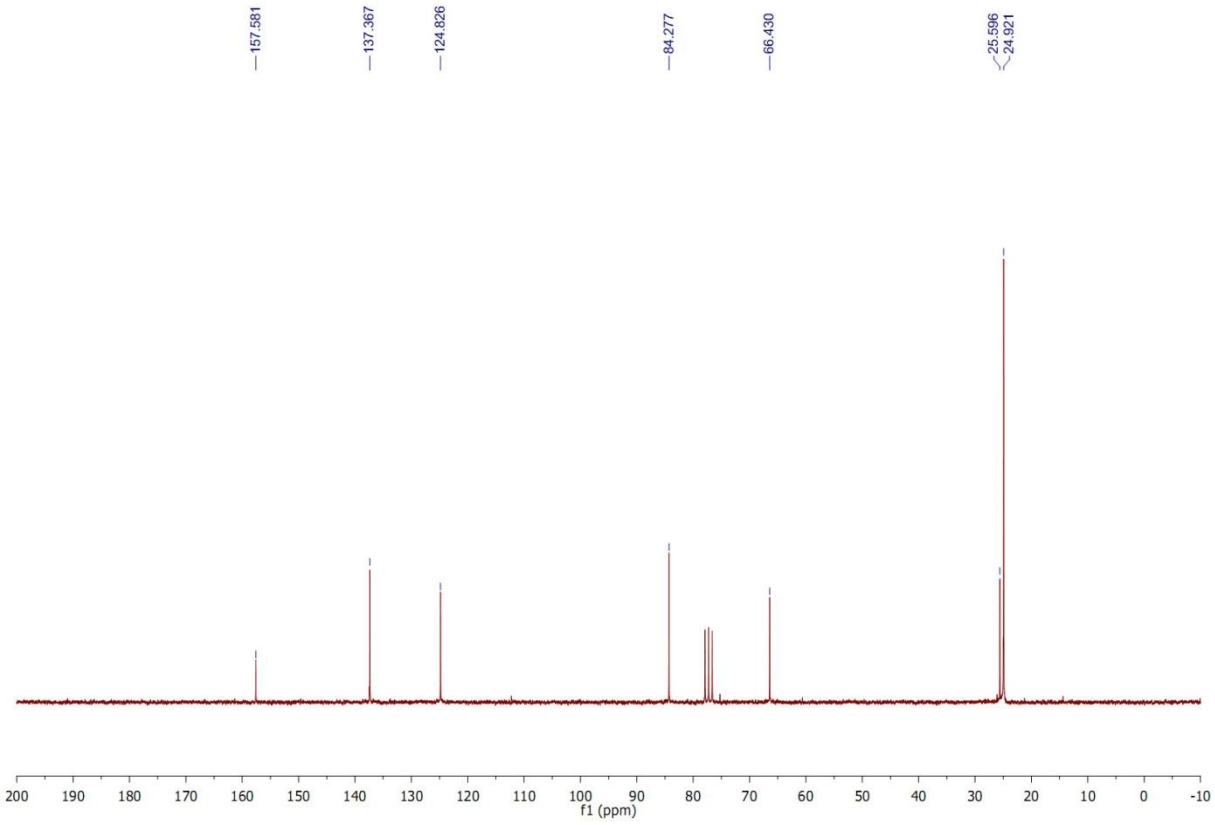
Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) do composto **72f**



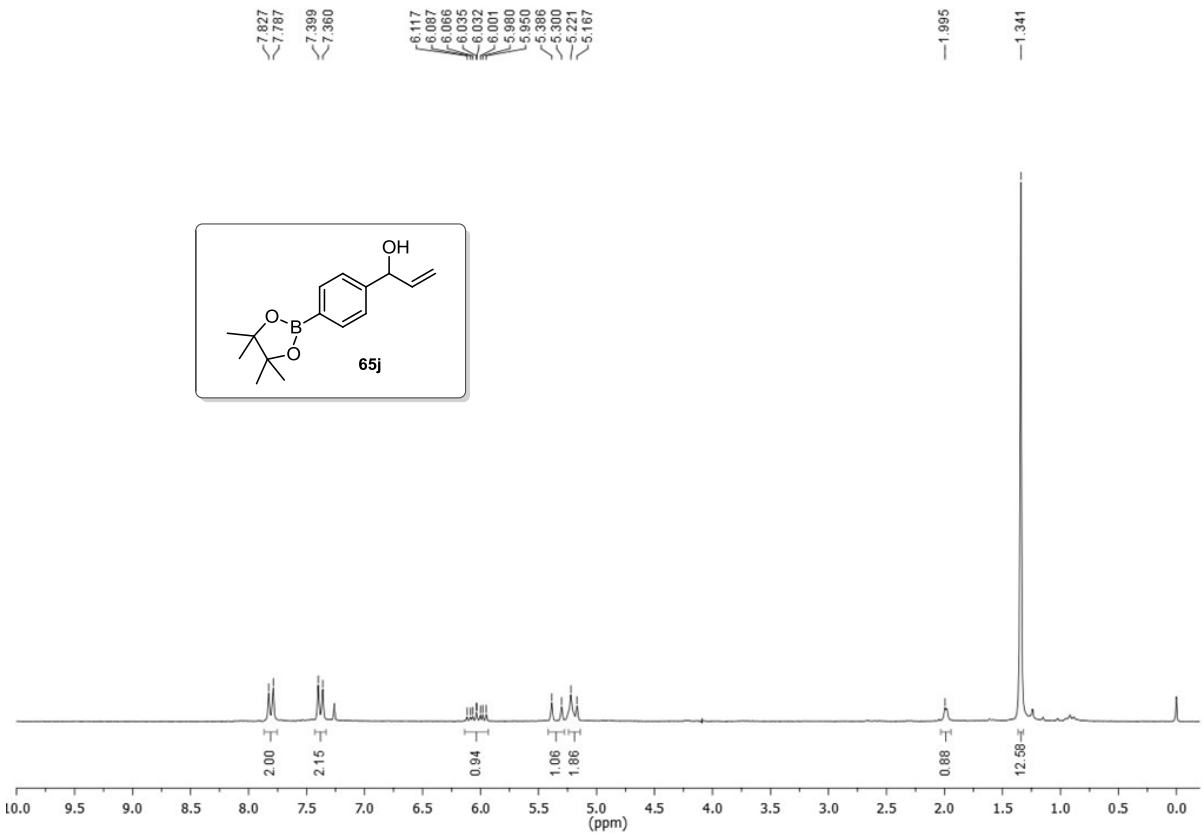
Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) do composto **72f** (expansão)



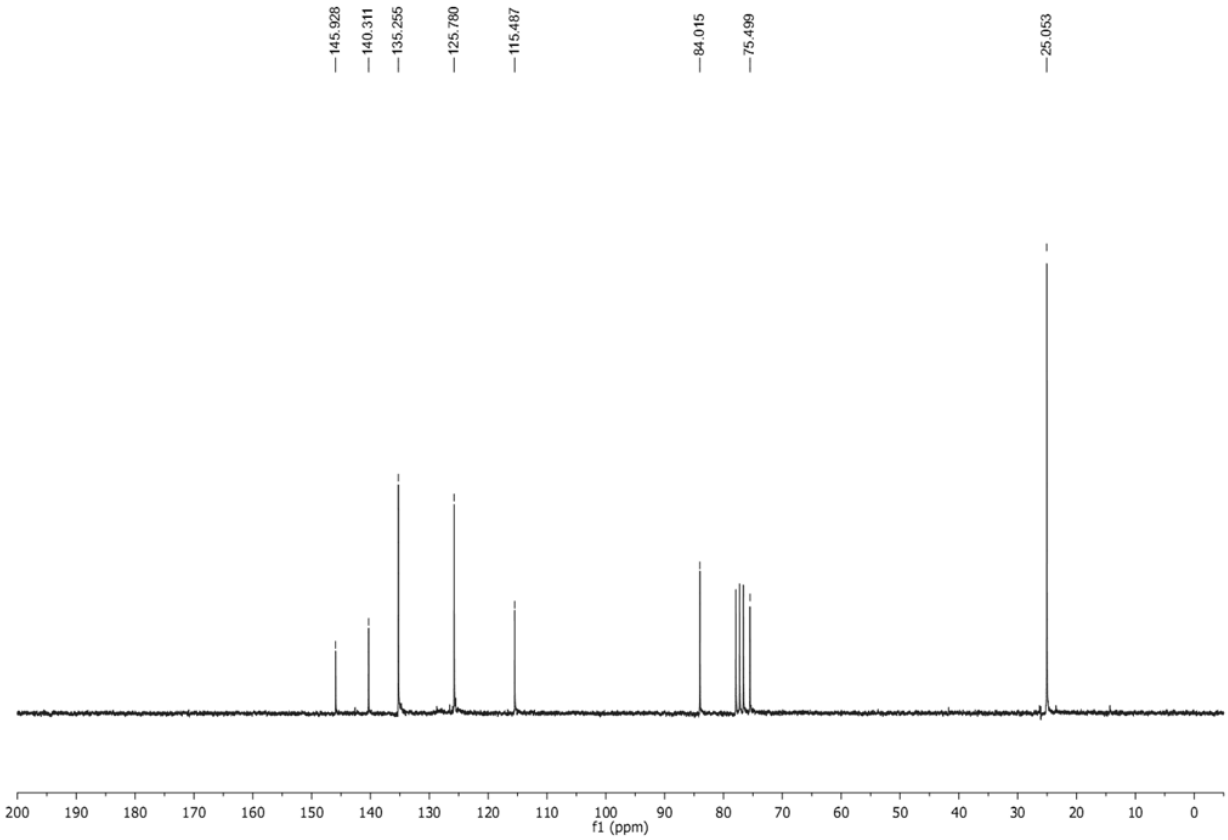
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **65i**



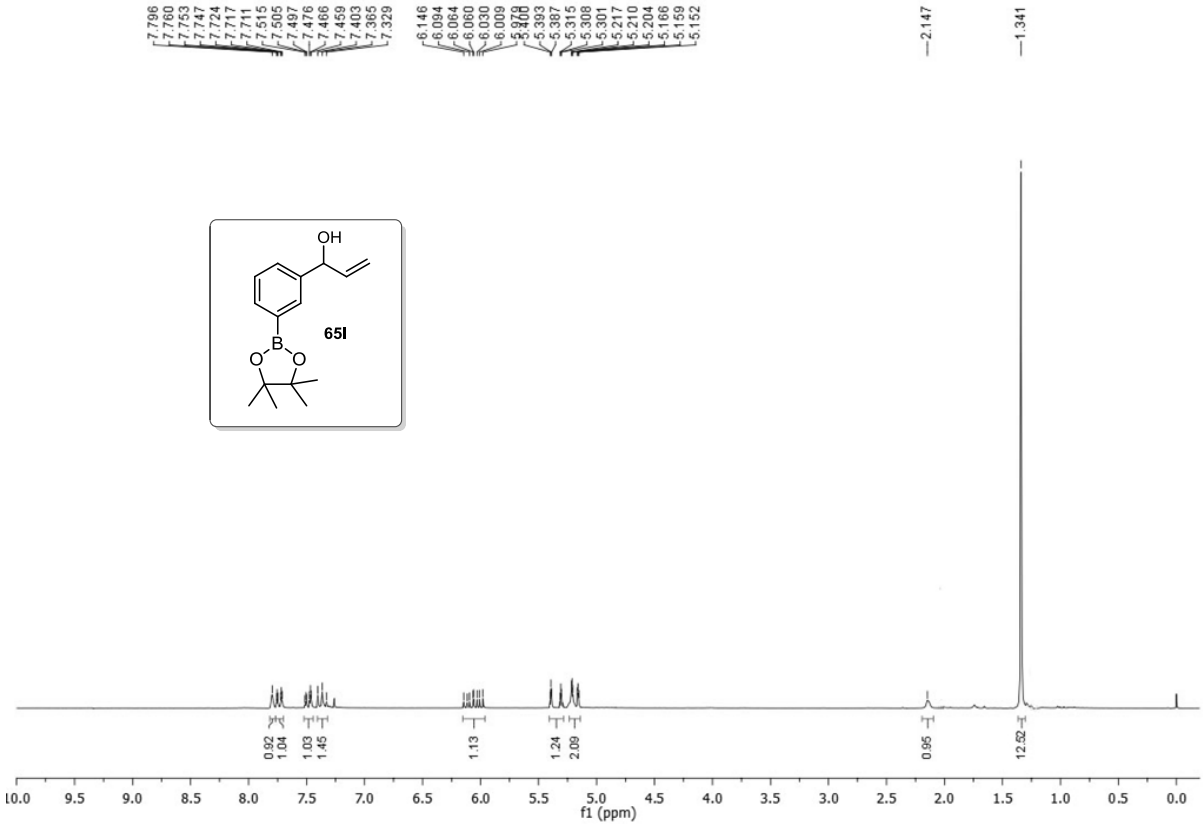
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **65i**



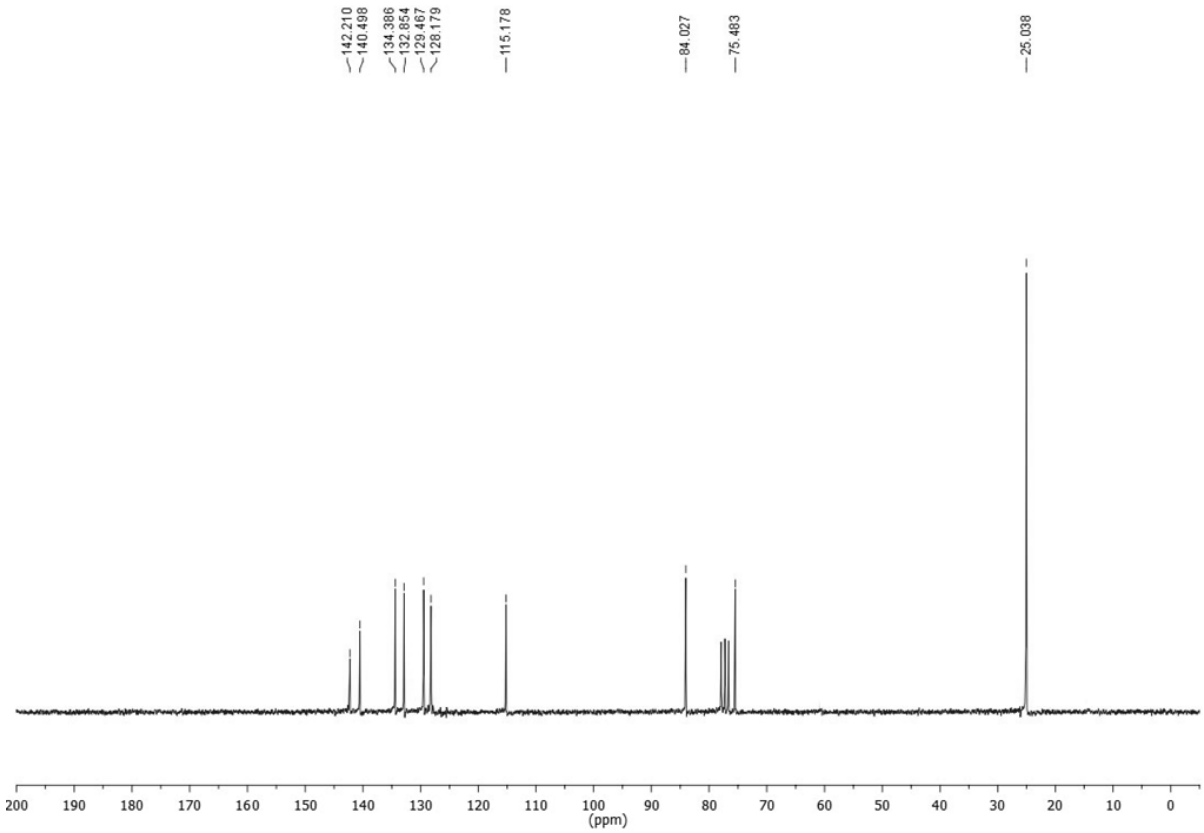
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **65j**



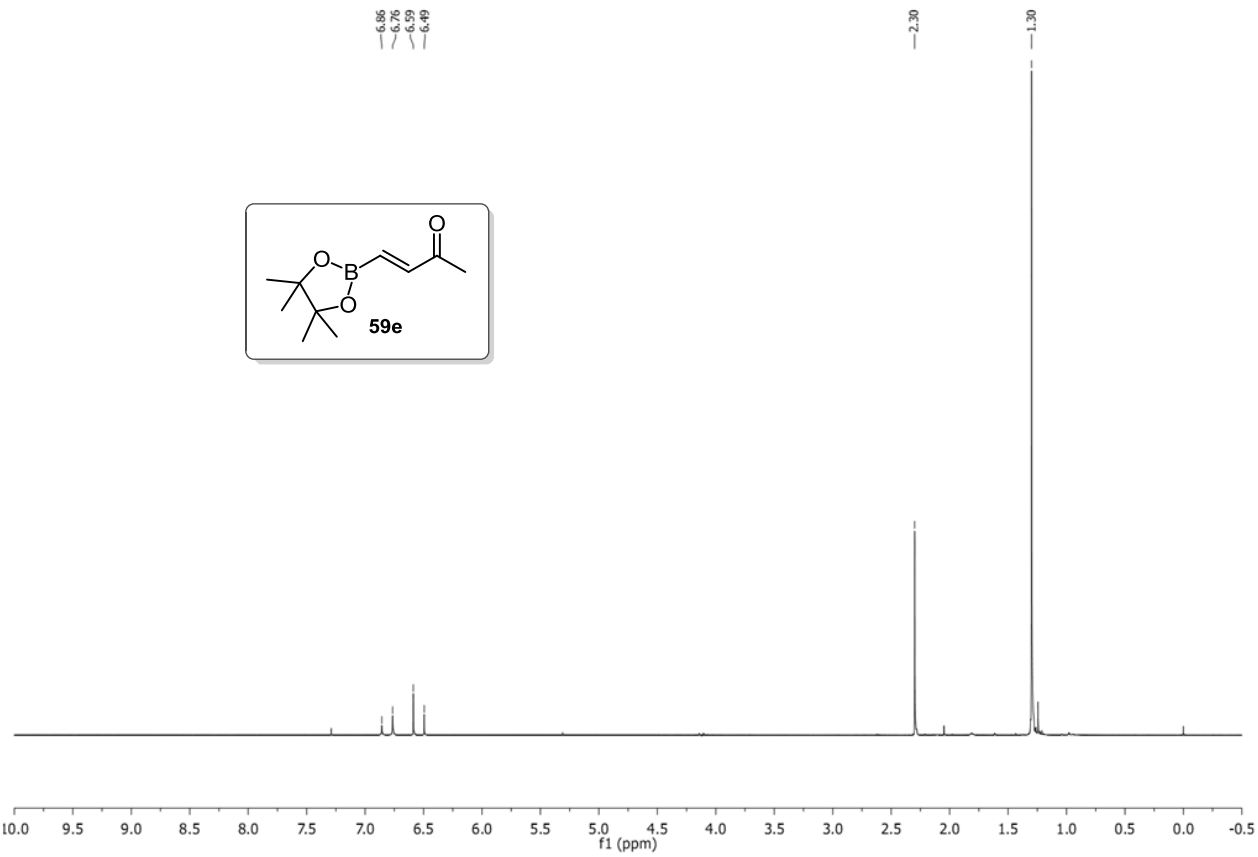
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **65j**



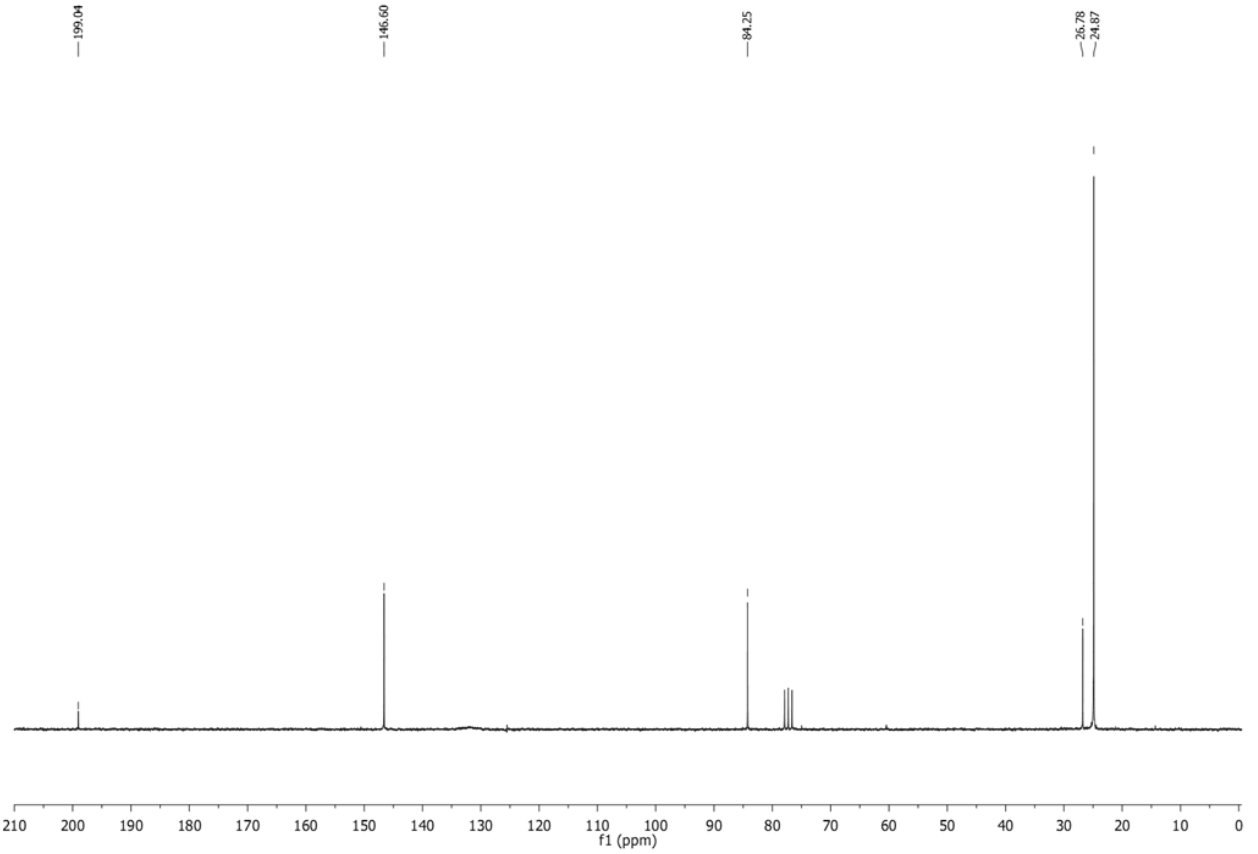
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **65l**



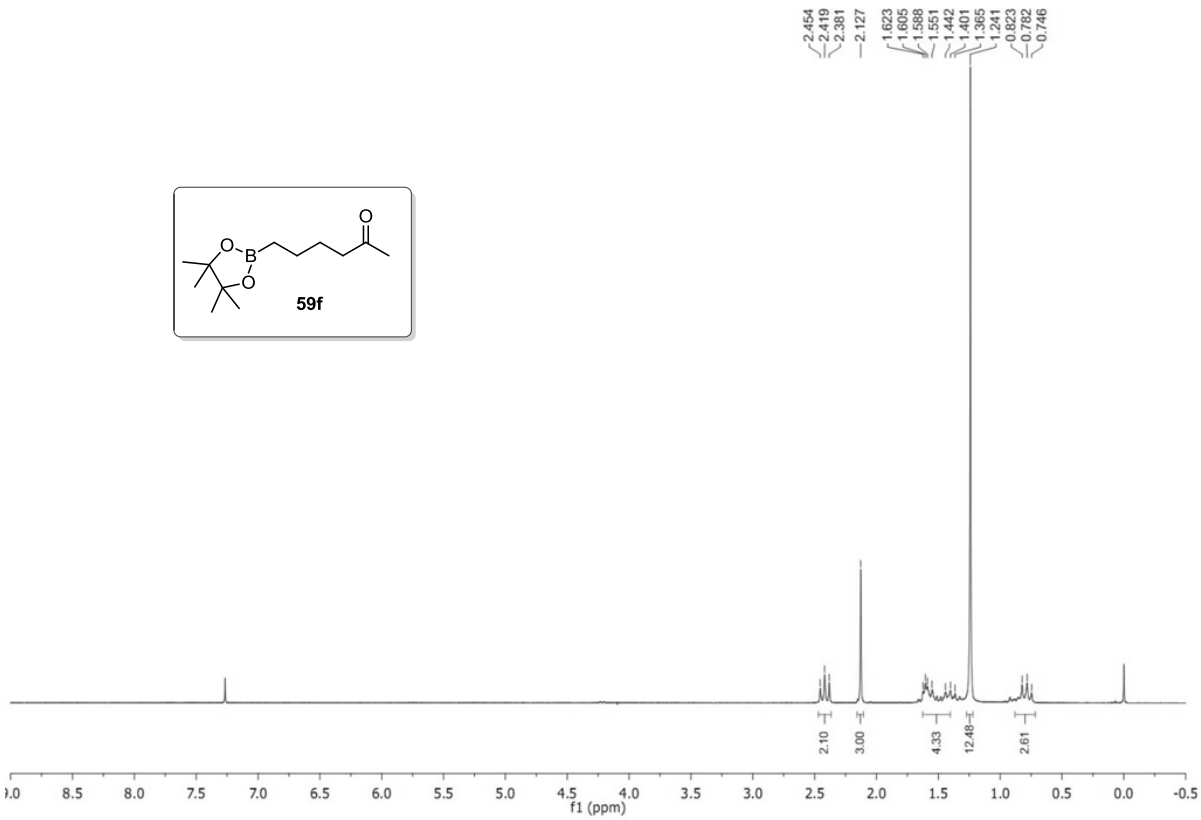
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **65l**



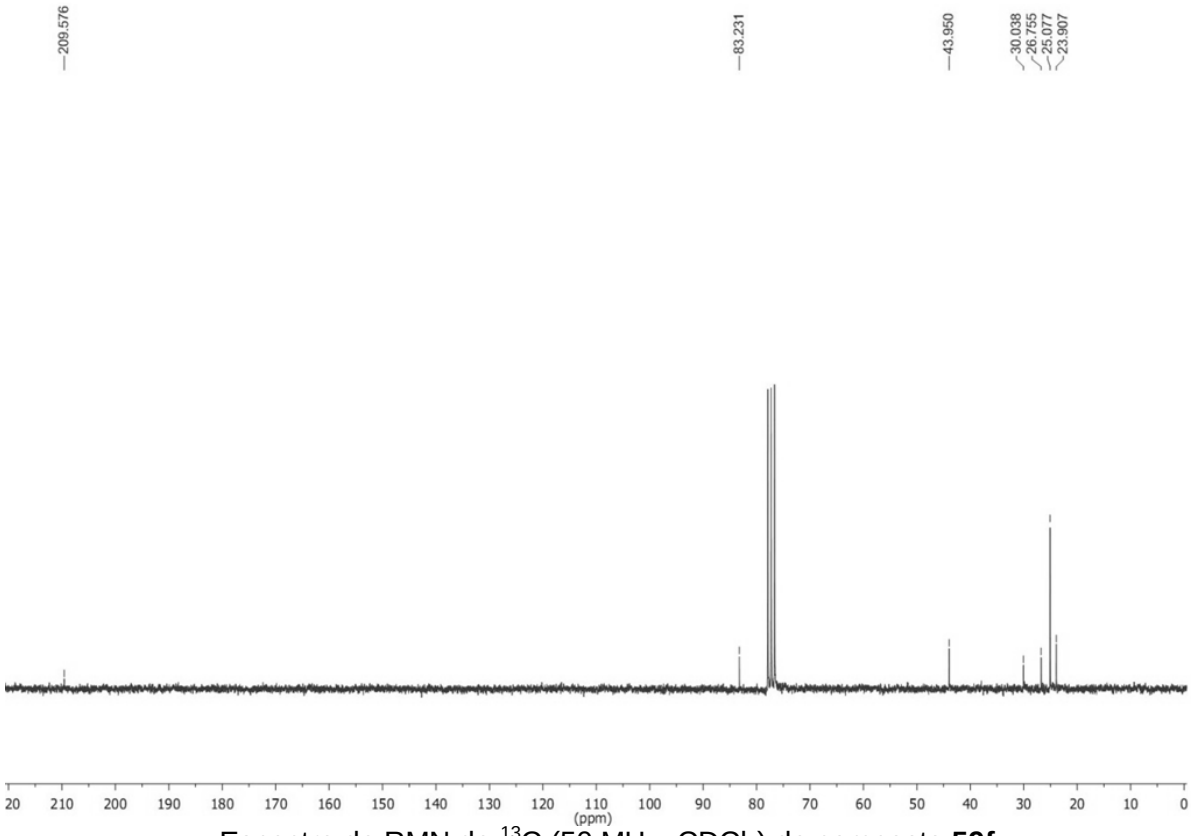
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **59e**



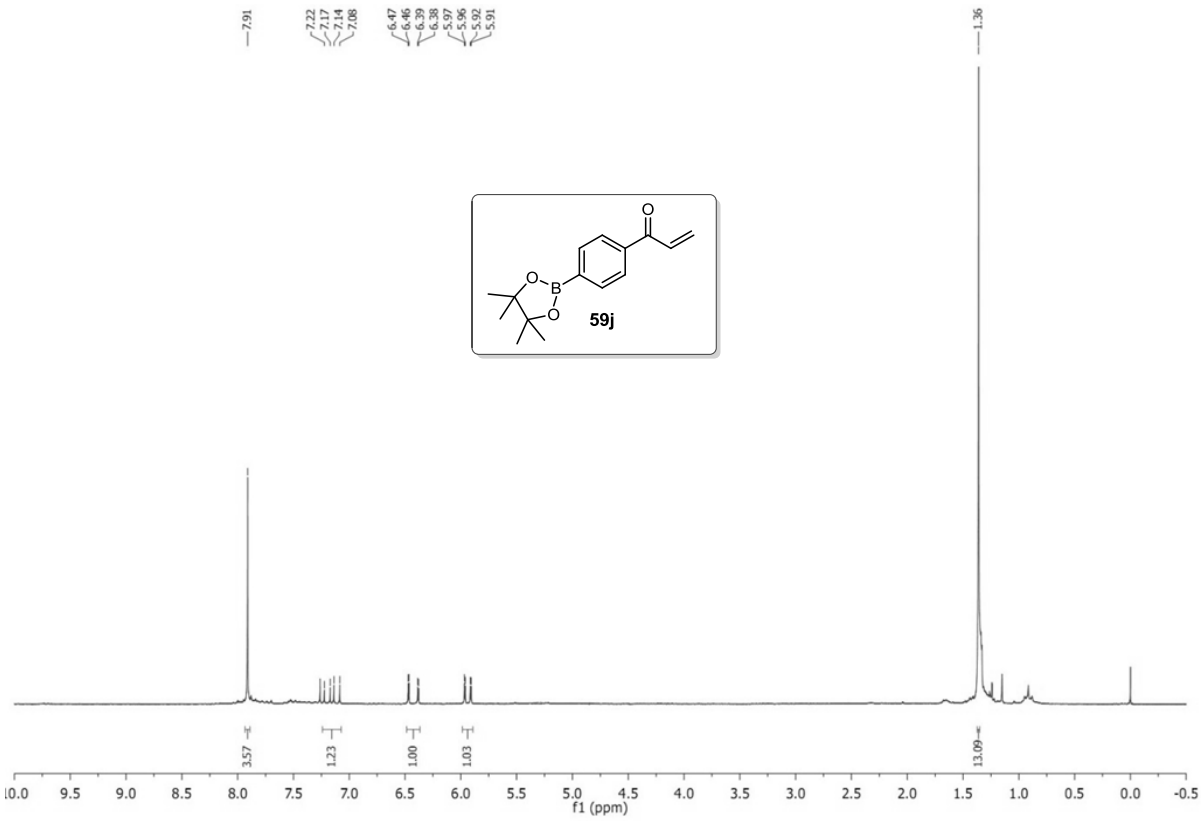
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **59e**



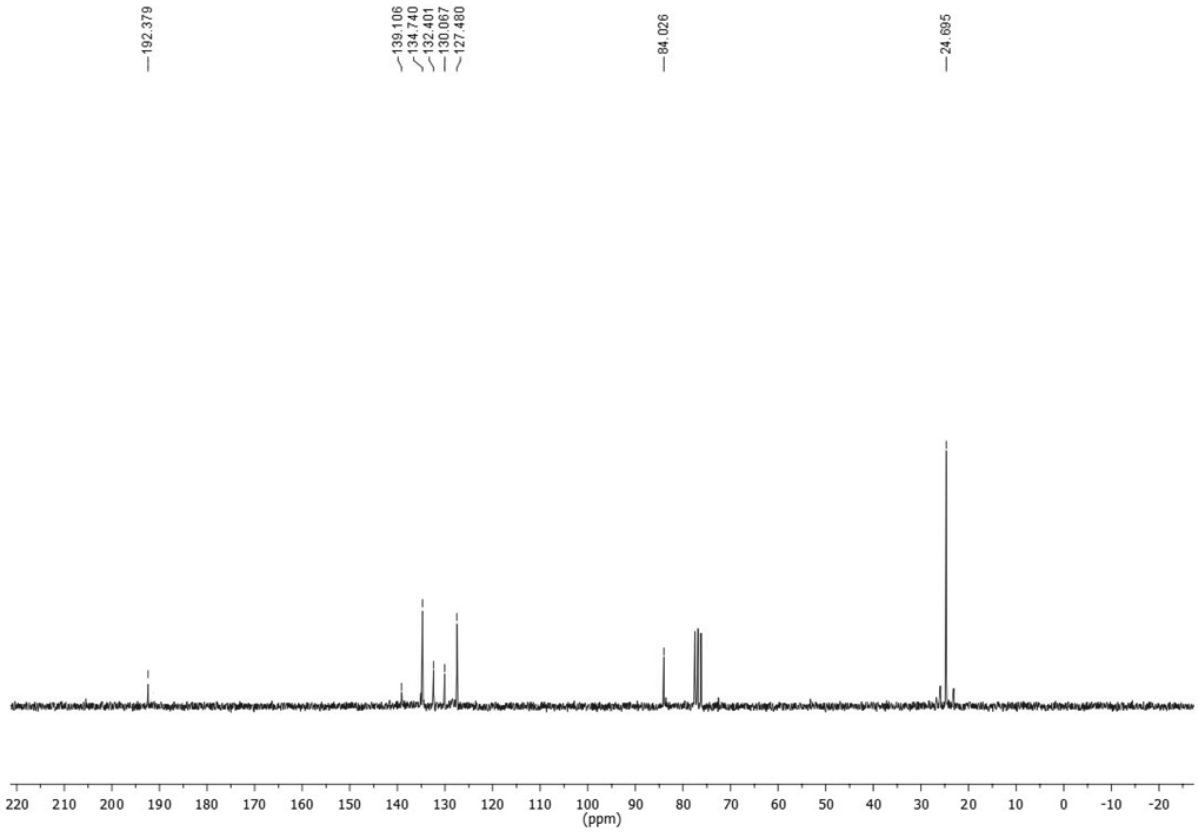
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **59f**



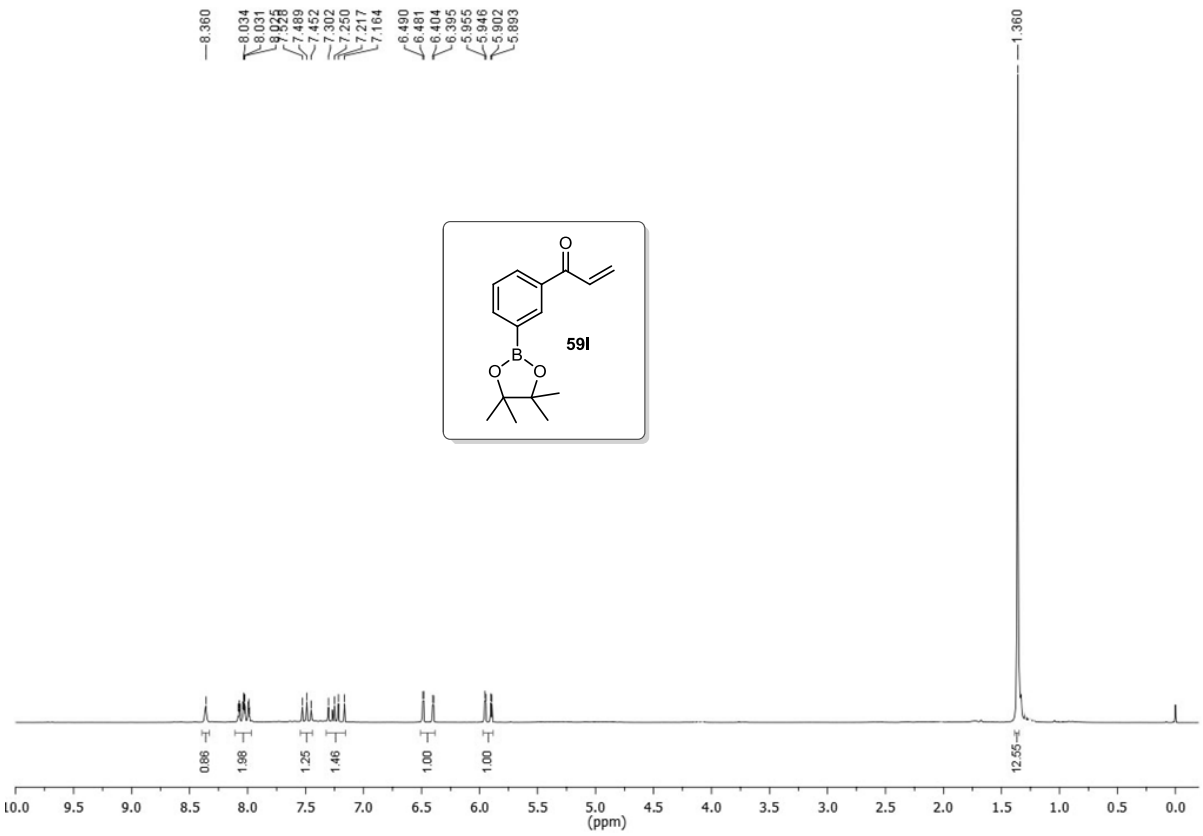
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **59f**



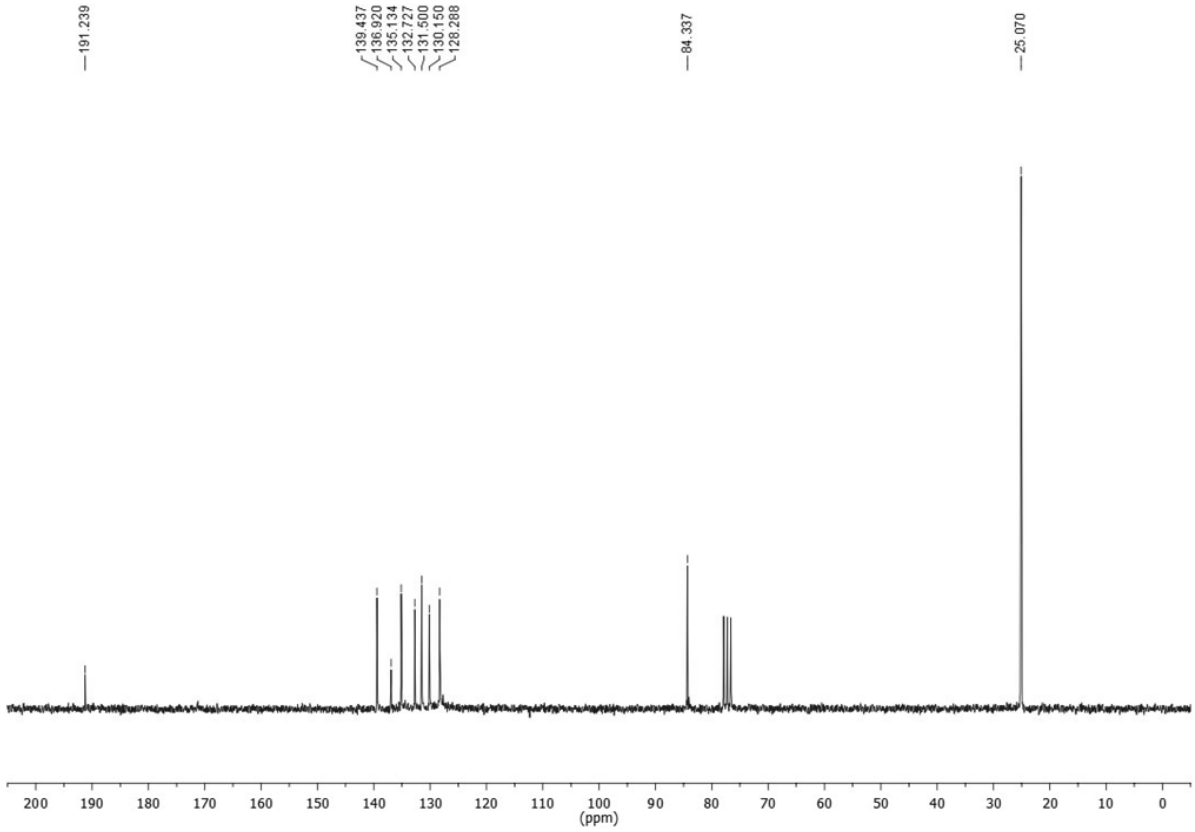
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **59j**



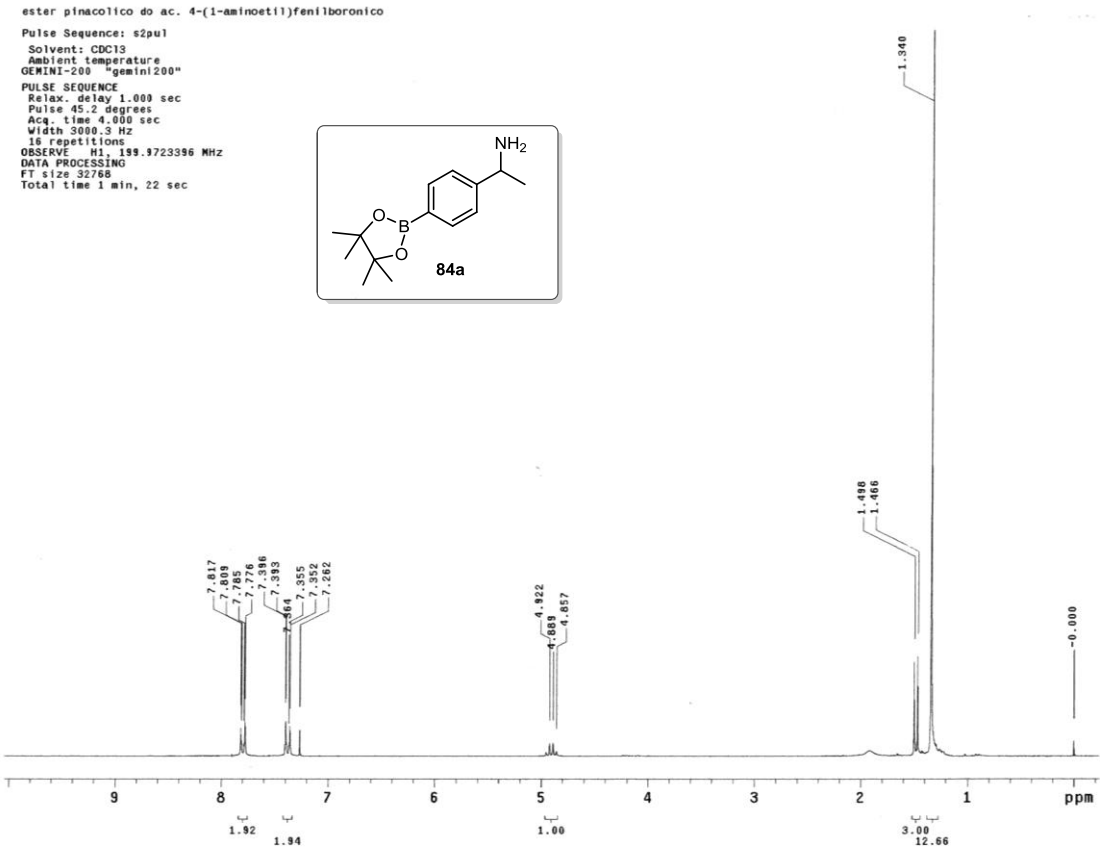
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **59j**



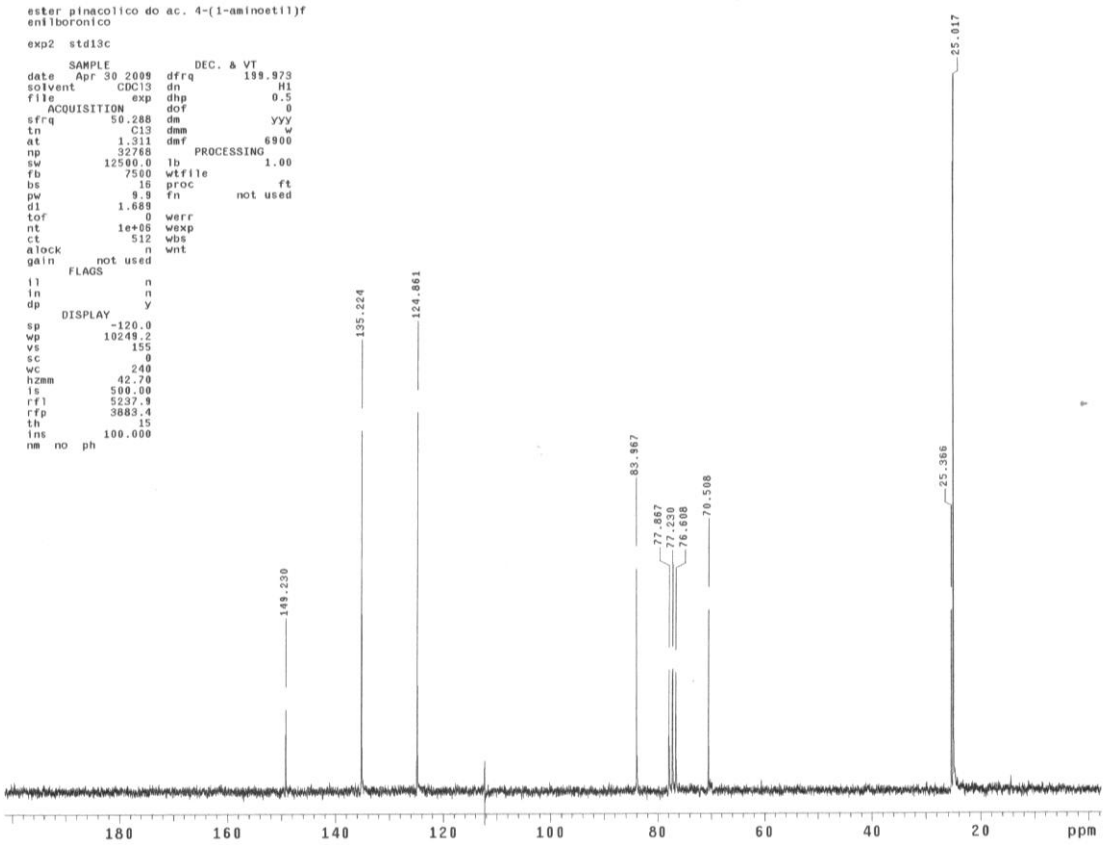
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **59l**



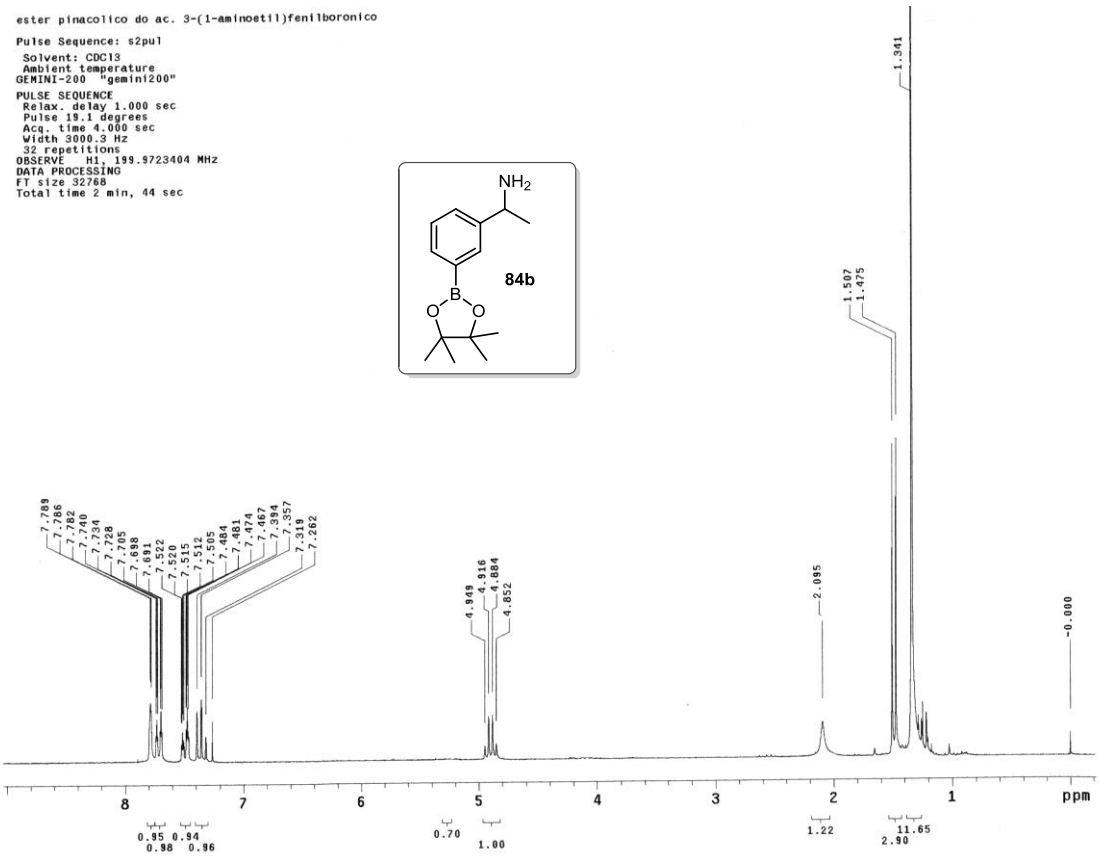
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **59l**



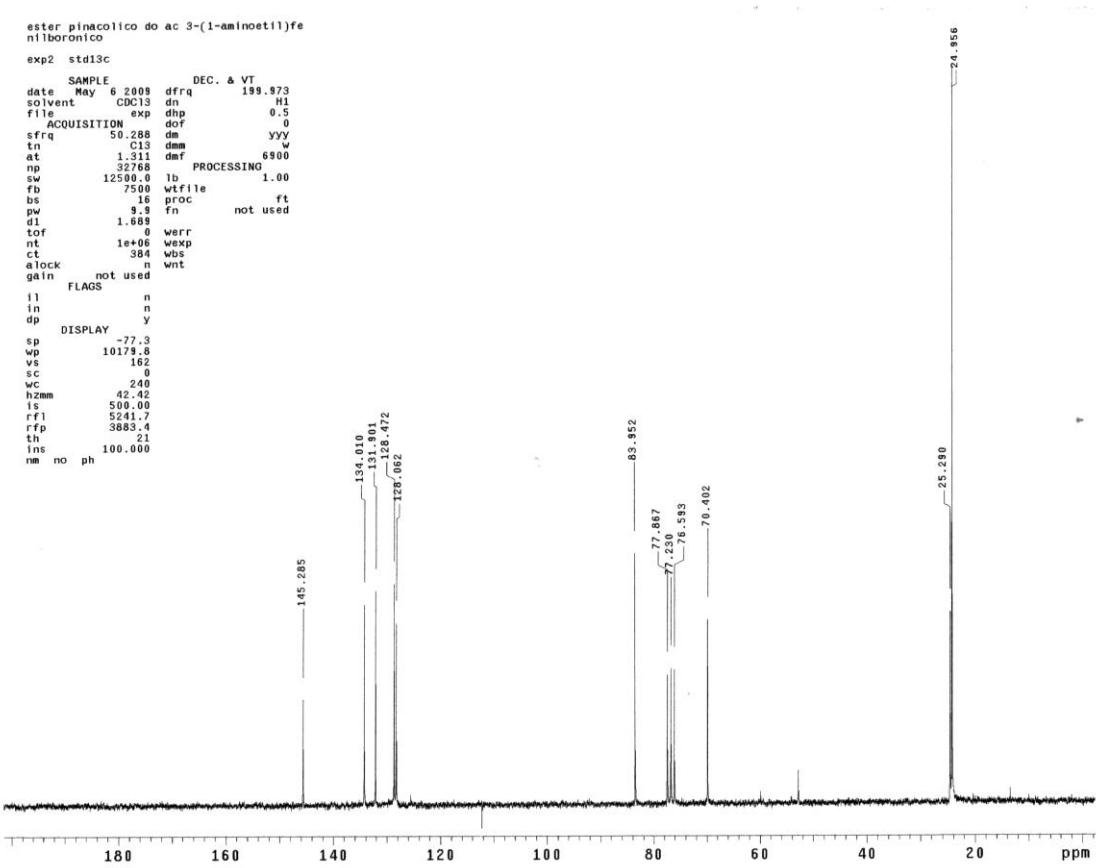
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **84a**



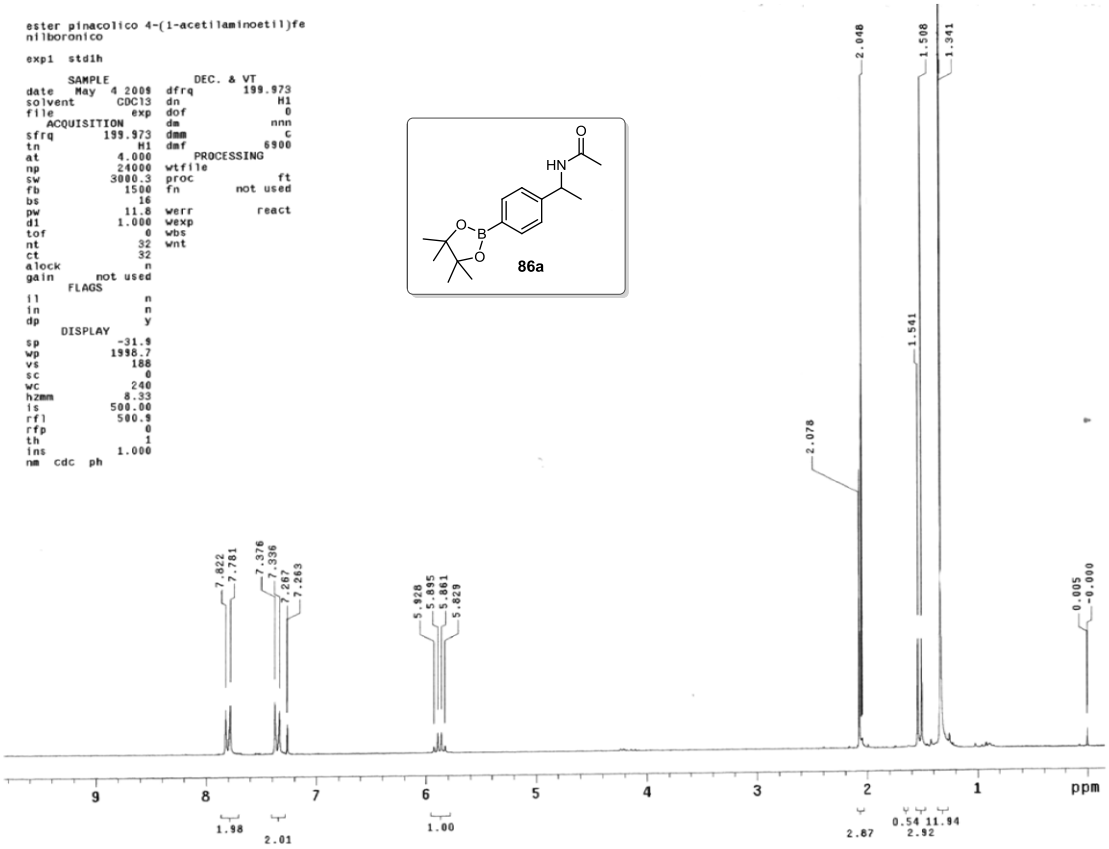
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **84a**



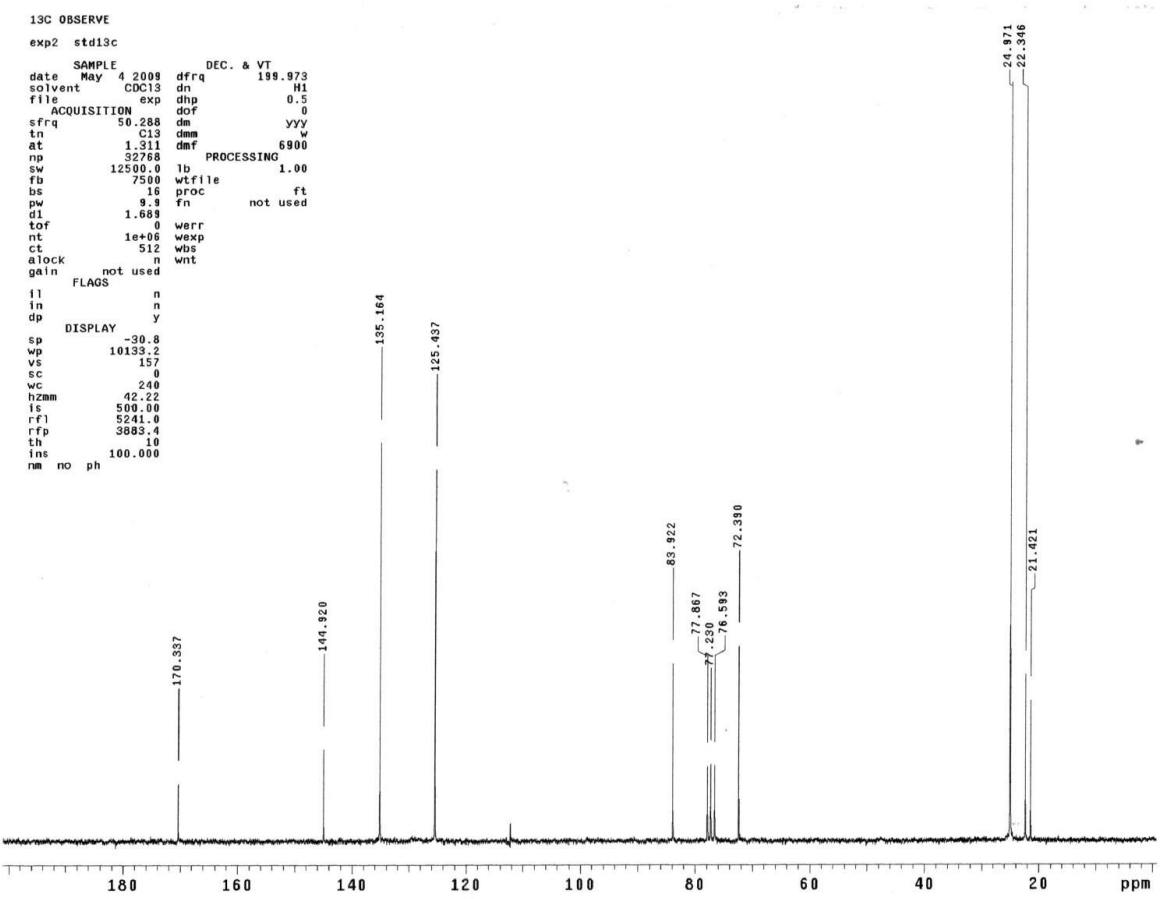
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **84b**



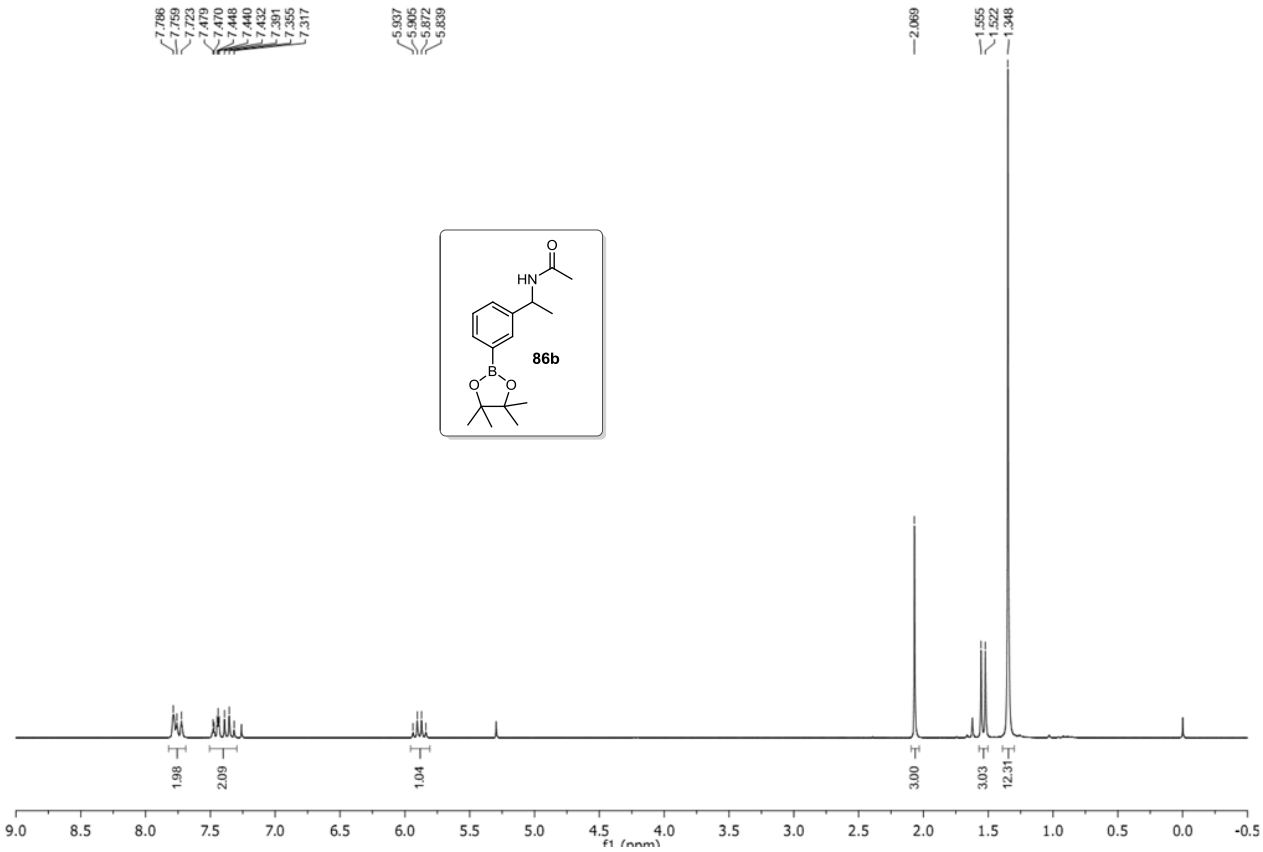
Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **84b**



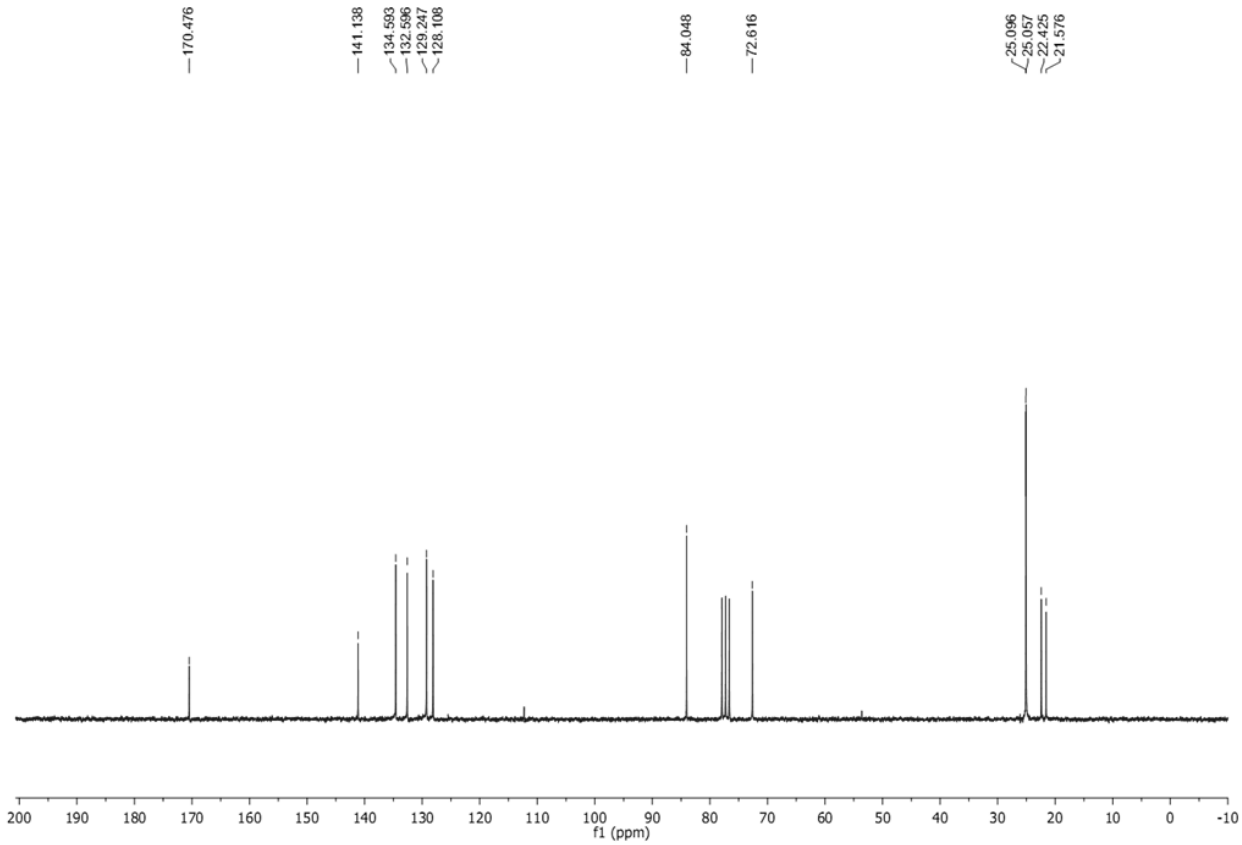
Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **86a**



Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **86a**



Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) do composto **86b**



Espectro de RMN de ^{13}H (50 MHz, $CDCl_3$) do composto **86b**