UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Química

JOEL SAVI DOS REIS

***“Resolução Cinética Enzimática de Hidroxiésteres Propargílicos:
uma via de obtenção de moléculas bioativas.”***

Dissertação de Mestrado

São Paulo

Data de Depósito na SPG:

28 / 08 / 2009

JOEL SAVI DOS REIS

***“Resolução Cinética Enzimática de Hidroxiésteres Propargílicos.
Uma via de obtenção de moléculas bioativas.”***

*Dissertação apresentada ao Instituto de
Química da Universidade de São Paulo
para a obtenção do Título de Mestre em
Química (Química Orgânica).*

Orientador: Prof. Dr. João Valdir Comasseto

São Paulo

2009

Joel Savi dos Reis

“Resolução Cinética Enzimática de Hidroxiésteres Propargílicos.
Uma via de obtenção de moléculas bioativas.”

*Dissertação apresentada ao Instituto de
Química da Universidade de São Paulo
para a obtenção do Título de Mestre em
Química (Química Orgânica).*

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. João Valdir Comasseto

Instituição: Instituto de Química – USP.

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

***Dedico este trabalho aos meus pais,
Elio e Marinelva, e minhas irmãs, Keila
e Marina. Obrigado pelas palavras,
pelo amparo, pelo carinho, enfim,
obrigado por tudo, sempre!***

À minha namorada, Eloisa, por me suportar nos momentos em que eu beirava a insanidade. Obrigado por todos os sentimentos que tu tens por mim. Te amo, minha querida!

AGRADECIMENTOS

À Deus por iluminar o meu caminho e me dar sabedoria nos momentos difíceis. Ao meu Santo Expedito, o Santo das Causas Urgentes, que muitas vezes esteve ao lado de minhas reações.

Ao Prof. Comasseto pela oportunidade de desenvolver o mestrado e, como ele diz, dar asas a elefantes. É um grande prazer fazer parte deste seleto grupo que possui a sua orientação no currículo.

Aos colegas de laboratório, Artur, Rogério (Tico), Fabiano, Jefferson, Cristiano, Márcio (Amarello), Fabrício, Takeo, Bruno Bassora, Renan (Polaco), Patrícia, Márcio (Mixa), Bruno Artur, Morilo, Natália, Danilo (todos os apelidos que terminam em ilo/ílio) e Fernando. Todos vocês me ensinaram muitas coisas; as coisas boas certamente levarei comigo e passarei adiante.

Um agradecimento especial ao Renan. Nunca a expressão “colaborador” teve um sentido tão amplo, desde os momentos de descontração durante o café até o limite da raça. Valeu, meu colaborador!

Ao Alexandre e a D. Rosa; insubstituíveis e imprescindíveis para o bom andamento do laboratório.

Aos amigos dos laboratórios dos professores Hélio, Leandro e Diogo.

Aos amigos Fabrício, Amarello e Diogo que me deram total suporte quando na minha chegada a São Paulo; e também ao Diego e o Hugo pela convivência no mesmo apartamento.

Aos colegas de apartamento Bernardo, Pati e Ana por me aturarem este tempo. Obrigado por desenvolverem a temida arte da convivência.

À família Vilas Boas, que recebeu o forasteiro de portas sempre abertas, como se já fosse membro da família, designando a função de cuidar da sua jóia, Eloísa.

Um agradecimento especial ao hoje Professor, e sempre Mestre, Rodrigo Panatieri. Obrigado por me iniciar neste mundo da síntese orgânica e semear tantas certezas em mim.

A todo pessoal de Santa Maria, principalmente os professores Hugo Braibante, Antônio L. Braga e Gilson Zeni e os colegas da graduação.

Lá de Marau, os meus amigos e minha família, que não sabiam exatamente o que eu fazia, mas sempre me deram aquela força mesmo estando longe, e a Prof^a. Tânia, minha primeira professora de química, que despertou o meu gosto por esta ciência e viu os meus olhos brilharem em um, hoje simples, teste de chama.

Ao pessoal da Central Analítica IQUSP, principalmente ao Márcio, a Cris e a Adriana.

Aos professores e funcionários do Instituto de Química.

Ao CNPq pela bolsa concedida; FAPESP e CAPES pelo suporte financeiro.

A todos que contribuíram de uma forma ou outra na minha formação.

Muito obrigado!

RESUMO

Reis, J. S. **“Resolução Cinética Enzimática de Hidroxiésteres Propargílicos: uma via de obtenção de moléculas bioativas.”** 2009 (139p.) Dissertação Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

A obtenção de moléculas enantiomericamente puras ou enriquecidas tem se demonstrado um grande desafio em química orgânica sintética. Dentre as diversas metodologias investigadas para este fim, a biocatálise aparece como uma importante ferramenta sintética. Devido a grande habilidade para a diferenciação de enantiômeros, atualmente as enzimas são empregadas em reações químicas – como de resolução cinética – possibilitando a obtenção de compostos opticamente ativos.

De maneira adicional, hidroxiésteres propargílicos são compostos trifuncionalizados, podendo ser transformados em diversas outras formas moleculares. Em outras palavras, são interessantes intermediários sintéticos – comumente chamados blocos de construção – de moléculas biologicamente ativas como fármacos e feromônios.

No presente trabalho, desenvolveu-se uma metodologia para a obtenção de hidroxiésteres **1**, **2** e **3** enantiomericamente enriquecidos via resolução cinética enzimática. Em um primeiro momento foram investigadas variáveis como temperatura, tempo, quantidade de doador de acila, solvente e enzima adequada para a reação.

Em uma segunda etapa do trabalho, foram desenvolvidas seqüências reacionais onde os hidroxiésteres originariam moléculas bioativas

No caso do hidroxiéster **2**, após a lactonização, adição do grupamento adequado na porção acetilênica e redução da ligação tripla, foi possível sintetizar intermediários sintéticos avançados das moléculas bioativas goniotalamina e argenilactona.

De maneira análoga, o hidroxiéster **3** foi submetido a uma seqüência reacional; lactonização, adição do grupo alquílico na porção acetilênica e redução da ligação tripla, obtendo os feromônios buibuilactona e japonilura.

Através deste trabalho, demonstramos o comportamento de hidroxiésteres propargílicos em reações de resolução cinética enzimática e também demonstramos a sua utilidade como intermediários sintéticos ou blocos de construção de moléculas biologicamente ativas.

Palavras-chave: Hidroxiésteres, Resolução Cinética Enzimática, Moléculas Bioativas.

ABSTRACT

Reis, J. S. “**Enzymatic Kinetic Resolution of Propargylic Hydroxyesters: a way to obtain bioactive molecules.**” 2009 (139p.) Masters Thesis – Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The synthesis of enantiomerically pure or enriched molecules have been a big challenge in synthetic organic chemistry. Among a variety of disciplines dedicated to achieve this goal, biocatalysis appears as an important synthetic tool. Due to the great ability of enantiomers recognition, nowadays enzymes are employed in chemical reactions – such as kinetic resolution – allowing the synthesis of optically active compounds.

Additionally, propargylic hydroxyesters are trifunctionalized compounds, which can be transformed in many other useful compounds. In other words, they are interesting synthetic intermediates for the synthesis of biologically active molecules, like pharmaceuticals and pheromones.

Herein, we developed a methodology to obtain the enantiomerically enriched hydroxyesters **1**, **2**, and **3** by an enzymatic kinetic resolution. Reaction conditions like temperature, reaction time, quantity of acyl donor, solvent and enzyme were screened, in order to obtain high yields and enantioselectivities.

With the hydroxyesters in hands, we employed them for the synthesis of bioactive molecules.

In the case of hydroxyester **2**, after the lactonization and manipulation of the acetylene portion, followed by reduction of the triple bond, advanced synthetic intermediates for the synthesis of the bioactive molecules goniotalamine and argentilactone were prepared.

In the same way, the hydroxyester **3** was submitted to a reaction sequence, involving lactonization, addition of alkyl group at the acetylene portion and the reduction of triple bond, leading the pheromones buibuilactone and japonilure.

In summary, we have shown the enzymatic kinetic resolution of propargylic hydroxyesters and also their use as synthetic intermediates for the synthesis of biologically active molecules.

Keywords: Hydroxyesters, Enzymatic Kinetic Resolution, Bioactive Molecules.

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

[α]_D	Rotação Óptica
AH-S	Lipase de <i>Burkholderia cepacia</i>
ANL	Lipase A de <i>Aspergillus niger</i>
BMIM	Butilmetilimidazol
Bn	Benzil
c	Conversão
CAL-B	Lipase B de <i>Candida antarctica</i>
CCL	Lipase de <i>Candida cylindracea</i>
CG	Cromatógrafo Gasoso
CG-EM	Cromatógrafo Gasoso acoplado ao Espectrômetro de Massas
CRL	Lipase de <i>Candida rugosa</i>
d	Dubleto
DCM	Diclorometano
dd	Duplo dubleto
dt	Duplo tripleto
dtd	Duplo triplo dubleto
E	Razão Enantiomérica
e.e.	Excesso Enantiomérico
EMAR	Espectroscopia de Massas de Alta Resolução
eq	Equivalente
ESI	Ionização por elétron spray
h	Hora
HLL	Lipase de <i>Termomyces lanuginosus</i>
HMPA	Hexametilfosforamida
J	Constante de Acoplamento
kPa	Pascal x 10 ³
LDA	Diisopropilamideto de Lítio

m	Multiplete
M⁺	Íon Molecular
m/z	Relação massa/carga
MHz	Hertz x 10 ⁶
min	Minuto
MJL	Lipase de <i>Mucor javanicus</i>
MML	Lipase de <i>Mucor miehei</i>
MOM	Metóxi-metil
MTBE	<i>terc</i> -Butilmetiléter
°C	Graus Celsius
PCC	Clorocromato de Piridínio
PCL	Lipase de <i>Pseudomonas cepacia</i>
Ph	Fenila
PPL	Lipase de Pâncreas Suíno
ppm	Partes por milhão
PSC	Lipase de <i>Pseudomonas cepacia</i>
PSL	Lipase de <i>Pseudomonas sp.</i>
PTSA	Ácido <i>para</i> -Toluenosulfônico
qui	Quinteto
<i>rac</i>	Racêmico
RAL	Lipase de <i>Rhizopus arrhizus</i>
Red-Al	Bis(2-metóxi-etóxi)aluminohidreto de Sódio
RML	Lipase de <i>Rhizomucor miehei</i>
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RNL	Lipase de <i>Rhizopus niveus</i>
ROL	Lipase de <i>Rhizopus oryzae</i>
rpm	Rotações por Minuto
s	Singleto
sl	Singleto largo
T	Temperatura

t	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente
tt	Triplo tripleto
TBDPS	<i>terc</i> -Butildifenilsilil
TEA	Trietilamina
TFA	Ácido Trifluoracético
THF	Tetrahidrofurano
TMEDA	<i>N,N,N',N'</i> -Tetrametiletenodiamina
TMS	Tetrametilsilano

SUMÁRIO

Resumo.....	V
Abstract.....	VI
Lista de Siglas, Abreviaturas e Símbolos.....	IX
1. Introdução.....	1
1.1 – Histórico.....	2
1.2 – As Enzimas.....	5
1.3 – Catálise Enzimática.....	8
1.4 – Aspectos Mecanísticos.....	12
1.5 – Aspectos Termodinâmicos.....	16
1.6 – A Regra de Kazlauskas.....	18
2. Revisão Bibliográfica e Objetivos.....	20
3. Resultados e Discussão.....	27
3.1 – Parte Enzimática.....	28
3.2 – Parte Sintética.....	52
3.3 – Caracterização das Moléculas.....	69
4. Considerações Finais.....	74
5. Parte Experimental.....	76
5.1 – Materiais e Métodos.....	77
5.2 – Procedimentos Experimentais.....	80
6. Dados Analíticos.....	88
7. Espectros Seleccionados.....	98
8. Referências Bibliográficas.....	120

1. Introdução

1.1 – HISTÓRICO

As enzimas são catalisadores das reações químicas ocorridas nas células vivas. Provavelmente, a ausência de tais catalisadores faria com o metabolismo da célula fosse muito lento, a ponto de tornar-se inviável a manutenção da vida nesse organismo.

O termo “biocatálise” se aplica aos processos químicos cujas reações são catalisadas por enzimas isoladas ou contidas em microrganismos e a rigor podem ser consideradas exatamente iguais a outros reagentes de ação catalítica ordinariamente empregados em química convencional.

A história das enzimas e a aplicação da biocatálise nos remete a milhares de anos atrás; no Egito antigo por exemplo, microrganismos eram utilizados na produção de álcool ou bebidas alcoólicas, queijos, pães e outros tantos insumos produzidos em atividades cotidianas.¹ Naturalmente, o conhecimento acerca destes processos era essencialmente empírico.

Figura 1.1.1 – Acima, ilustração de uma produção de cerveja na antiguidade; abaixo a esquerda, representação do consumo de pão no Egito antigo; abaixo a direita, arte rupestre que relata produtos derivados de grãos.

¹ Ghanem, A. *Tetrahedron* **2007**, 62, 1721-1754.

Somente nos séculos XVIII e XIX a biocatálise receberia uma base mais científica, devido a estudos de muitos cientistas.¹ Como exemplo de alguns destes pesquisadores, cabe citar Jöns Jacob Berzelius, Theodor Schwann, Justus von Liebig, Louis Pasteur e Emil Fischer.

Em termos de química na atualidade, nenhum outro aspecto da síntese orgânica despertou tanto interesse quanto a preparação de compostos enantiomericamente puros ou enriquecidos. Em 2001, os químicos Sharpless, Noyori e Knowles foram agraciados com o Prêmio Nobel de Química por suas importantes contribuições no desenvolvimento de técnicas de síntese assimétrica.²

Como a atividade biológica das substâncias está freqüentemente relacionada com sua pureza óptica, existe um grande interesse da indústria – sobretudo a farmacêutica – em substituir drogas em sua forma racêmica por seus derivados enantiopuros.³ Em uma pesquisa recente, das 128 sínteses realizadas por três grandes indústrias farmacêuticas,⁴ 69 consistem na preparação de compostos quirais. Sabe-se que dois enantiômeros podem interagir de forma diferenciada num organismo, e em alguns casos apresentar diferentes atividades.⁵ Entre elas, observa-se desde a distinção de odores até efeitos teratogênicos.

A seguir temos alguns exemplos de isômeros ópticos com diferentes atividades.

² Para revisões individuais dos agraciados com o Prêmio Nobel, veja: (a) Knowles, W. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 1998-2007. (b) Noyori, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2008-2022. (c) Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2024-2032.

³ (a) Stephen, C. S. *Chem. Eng. News* **2001**, 79, 79-97. (b) Breuer, M.; Ditrach, K.; Habicher, T.; Hauer, B.; Kessler, M.; Stürmer, R.; Zelinski, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 788-824.

⁴ Carey, J. S.; Laffan, D.; Thomson, C.; Williams, M. T. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4, 2337-2347.

⁵ Tumlinson, J. H.; Klein, M. G.; Doolittle, R. E.; Ladd, T. L.; Proveaux, A. T. *Science* **1977**, 197, 789-792.

Figura 1.1.2 – Diferenças de atividades entre enantiômeros de alguns compostos orgânicos.

Neste contexto, a biocatálise vem destacando-se rapidamente,⁶ tomando espaço na síntese enantiosseletiva de produtos como fragrâncias⁷, pesticidas⁸, feromônios⁹ e especialmente fármacos.¹⁰ As maiores aplicações da biocatálise concentram-se na síntese assimétrica, onde enzimas são empregadas em substituição aos processos químicos clássicos.

⁶ (a) Held, M.; Schmid, A.; van Beilen, J. B.; Witholt, B. *Pure Appl. Chem.* **2000**, 72, 1337-1343. (b) Hasan, F.; Shah, A. A.; Hameed, A. *Enzyme Microb. Technol.* **2006**, 39, 235-251.

⁷ (a) Brenna, E.; Fuganti, C.; Serra, S. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 2443-2451. (b) Franssen, M. C. R.; Alessandrini, L.; Terraneo, G. *Pure Appl. Chem.* **2005**, 77, 273-279.

⁸ Aleu, J.; Bustillo, A. J.; Hernandez-Galan, R.; Collado, I. G. *Curr. Org. Chem.* **2006**, 10, 2037-2054

⁹ (a) Aleu, J.; Bustillo, A. J.; Hernandez-Galan, R.; Collado, I. G. *Curr. Org. Chem.* **2007**, 11, 693-705. (b) Baraldi, P.; Corrêa, A. G. *Química Nova* **2004**, 27, 421-431.

¹⁰ (a) Patel, R. N. *Coord. Chem. Rev.* **2008**, 252, 659-701. (b) Mangas-Sanchez, J.; Rodríguez-Mata, M.; Busto, E.; Gotor-Fernández, V.; Gotor, V. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 5304-5310.

1.2 – AS ENZIMAS

Enzimas são proteínas macromoleculares naturais que catalisam reações químicas com alta especificidade. Elas são formadas por uma seqüência de resíduos de aminoácidos conectados uns aos outros através de ligações peptídicas, também conhecidas como amídicas. Apesar da grande massa molecular, essas proteínas são hidrossolúveis, devido ao fato de que cada unidade monomérica constituinte da estrutura desse polímero tem grupamentos polares – COOH, OH, NH₂, SH, CONH₂ – fazendo com que seja possível a solvatação desses grupamentos ao longo de toda a extensão da molécula. Apesar da estrutura de uma proteína estar representada de forma linear na figura 1.2.1, a liberdade de rotação das ligações carbono-carbono e carbono-heteroátomo, bem como a possibilidade de interações intra-moleculares – principalmente via ligações de hidrogênio – associada às restrições estéricas dos grupamentos R, faz com que as enzimas assumam arranjos tridimensionais lhes garantindo um formato específico.

Figura 1.2.1 – Representação da proteína; a esquerda estrutura linear e a direita estrutura em hélice.

As enzimas são classificadas de acordo com o tipo de transformação que são capazes de catalisar. De acordo com esse critério, a União Internacional de Bioquímica as dividiu em seis classes, conforme apresentado na tabela 1.2.1.

Tabela 1.2.1 – Classificação das enzimas

Classe	Tipo de Reação Catalisada	Exemplos
Oxidoredutases (E.C. 1)	Reações de redução e oxidação por transferência de hidrogênio, oxigênio e/ou elétrons entre moléculas	Desidrogenases, oxidases, oxigenases, peroxidases
Transferases (E.C. 2)	Transferência de determinados grupos orgânicos, tais como amino, acetil, fosforil, glicosil, de determinado doador a um receptor	Aminoácido transaminases
Hidrolases (E.C. 3)	Clivagem hidrolítica de ligações C-O, C-N, C-C e outras ligações	Lipases, acilases, nitrilases, amidases, proteases
Liasas (E.C. 4)	Clivagem por eliminação (formação de dupla ligação) ou adição a duplas ligações	Aldolases, oxinitrilases, hidroxinitrila liases
Isomerases (E.C. 5)	Catalisam reações de isomerização e racemização	Sintetases, glicina ligase
Ligases (E.C. 6)	Catalisam a junção covalente de duas moléculas à custa de ATP	Racemases, glicose isomerase

Para a identificação, cada enzima recebeu um código de quatro números que descreve as propriedades de cada uma delas. De modo geral, representa-se na forma: E.C. A.B.C.D, onde:

E.C. – “*Enzyme Commission*”¹¹;

A. – aponta o principal tipo de reação que a enzima realiza;

B. – subtipo, indicando o tipo de substrato/molécula transferida;

C. – natureza do co-substrato;

D. – número individual da enzima.

¹¹ Órgão da União Internacional de Bioquímica que regulamenta a nomenclatura de enzimas.

Mesmo existindo seis diferentes classes de enzimas, as hidrolases protagonizam o cenário da síntese orgânica, representando cerca de 60% das enzimas utilizadas; as oxidoredutases aparecem em segundo lugar, representando 25%. Cerca de 3.200 enzimas já foram catalogadas pela União Internacional de Bioquímica, porém estima-se que exista na natureza um número em torno de 25.000, sendo que 90% desta reserva permanece sem ser isolada, catalogada e conseqüentemente utilizada. Somente uma pequena fração de 10% (300 enzimas) já foram investigadas e são disponíveis comercialmente.¹²

Quanto as suas fontes de obtenção, as enzimas podem ser oriundas de células de fungos, bactérias, leveduras, plantas ou animais.

¹² Faber, K. *Biotransformations in Organic Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin, 5th Ed., **2004**.

1.3 – CATÁLISE ENZIMÁTICA

As enzimas, assim como os demais catalisadores, fornecem um caminho reacional diferente, de barreira energética menor, dessa forma, aumentam a velocidade das reações.¹² Esse efeito ocorre devido a formação de complexos intermediários entre o substrato e o biocatalisador. Se comparado com processos não-enzimáticos, a magnitude desta aceleração na velocidade da reação pode alcançar patamares de 10^8 - 10^9 , excepcionalmente até 10^{12} .

Figura 1.3.1 – Efeito de um catalisador químico (A) e de uma enzima (B) na energia de ativação.¹³

Grande parte do poder catalítico das enzimas ocorre por elas promoverem, através da formação de um complexo enzima-substrato (ES), a aproximação dos substratos em orientações favoráveis a transformações específicas.

¹³ Silverman R. B. *The Organic Chemistry of Enzyme-Catalyzed Reactions*, Academic Press: San Diego, **2002**.

Figura 1.3.2 – Panorama de energia de reação não catalisada e reação catalisada.

Enzimas podem ser usadas como catalisadores em reações químicas tanto na forma isolada quanto fazendo parte de microorganismos vivos. As razões pelas quais as enzimas são amplamente usadas em síntese estereosseletiva são inúmeras. Elas são catalisadores muito eficientes, podendo ser empregadas em concentrações de porcentagem molar de 10^{-3} a $10^{-4}\%$, quantidade muito menor se comparada com 0,1 a 1 mol% para os catalisadores químicos; enzimas são biodegradáveis e, em alguns casos as transformações podem ocorrer em meio aquoso, evitando o uso de solventes poluentes. No que tange a seletividade, as enzimas possuem um importante papel, podendo ser quimiosseletivas, regioseletivas, e/ou enantiosseletivas, ou seja, possuem a habilidade de diferenciar grupos funcionais, diferenciar grupos funcionais iguais presentes na mesma estrutura molecular e reconhecer enantiômeros. Outro fator favorável às enzimas são as brandas condições em que elas atuam; pH entre 5 e 8 – tipicamente 7 – e temperaturas entre 20 e 40 °C. Por fim, a tolerância enzimática a substratos não-naturais faz com que o processo enzimático seja aplicado às mais diversas classes de compostos químicos.

Conforme mencionado acima, as enzimas podem ser usadas em meio aquoso ou orgânico, porém, em termos de química orgânica sintética, geralmente tem-se a preferência pelo uso de solventes orgânicos. Como razões para esta

preferência, temos: a maioria dos solventes orgânicos possuem um ponto de ebulição menor do que a água, isto facilita a sua remoção do meio reacional e evita reações paralelas indesejadas; substratos apolares podem ser submetidos a catálise enzimática; a imobilização da enzima se torna opcional, uma vez que ela pode ser separada do meio orgânico por simples filtração; a denaturação das enzimas é minimizada (exceto em etanol); o equilíbrio termodinâmico está deslocado no sentido da síntese, e não da hidrólise. Ainda tem-se que a maioria dos substratos usados em química orgânica sintética são amplamente solúveis em solventes orgânicos.

Atualmente, é usual falarmos das áreas da química utilizando correlações entre elas, as quais chamamos de interfaces. A síntese orgânica e a biocatálise formam uma ampla e importante interface da química.¹⁴ A seguir, é apresentada a interface entre a química verde e a síntese orgânica assimétrica, também chamada de tecnologia quiral.

Figura 1.3.3 – A biocatálise e suas características.

Algumas possibilidades de transformações em síntese orgânica utilizando a catálise enzimática são apresentadas no esquema 1.3.1.

¹⁴ Wohlgemuth, R. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2007**, 82, 1055-1062.

Esquema 1.3.1 – A ferramenta sintética chamada Biocatálise.

Dentre os diversos tipos de reações catalisadas por enzimas, destaca-se a resolução cinética, cuja qual possibilita o reconhecimento e isolamento de cada enantiômero de um racemato, obtendo-os com uma determinada pureza óptica. Em outros termos, quando a mistura racêmica é submetida à resolução, um enantiômero reagirá preferencialmente com a enzima. Para fins ilustrativos, apresentamos um esquema geral de resolução para o 1-feniletanol (Esquema 1.3.2).

Esquema 1.3.2 – Equação genérica de uma resolução cinética enzimática.

1.4 – ASPECTOS MECANÍSTICOS

Como já demonstrado anteriormente, as enzimas são constituídas por aminoácidos, e estes aminoácidos são justamente a “força motriz” de uma reação química catalisada enzimaticamente. São os grupos polares, as ligações de hidrogênio, as interações iônicas e covalentes que se moldam constantemente no intuito de cumprir as transformações de substratos a que são designadas. Este conjunto de aminoácidos responsáveis pela reação química varia conforme cada classe de enzimas. No presente trabalho, devemos nos ater às lipases.

As lipases (E.C. 3.1.1.3) são enzimas pertencentes à família das serina hidrolases e podem ser encontradas em células de animais, plantas, fungos e bactérias. Sua principal função, como o próprio nome sugere, é quebrar ligações C-O em lipídeos, ou seja, transformar uma molécula de triacilglicerol (TAG) em uma molécula de glicerol e três moléculas de ácido graxo. No metabolismo humano por exemplo, esta função é vital, uma vez que os TAG não conseguem atravessar a parede intestinal. Em termos químicos, as lipases são uma classe de biocatalisadores das mais estudadas em síntese orgânica;¹⁵ sua versatilidade e popularidade é atribuída a larga faixa de reações que catalisa, combinada com sua seletividade e reconhecimento quiral. A resolução cinética de racematos é a aplicação mais comum de lipases em síntese orgânica.¹⁶

O mecanismo de ação das lipases é desencadeado pelo que conhecemos como a *Tríade Catalítica*. Esta tríade é o que o conjunto de resíduos de três aminoácidos: aspartato, histidina e serina. Uma vez em contato com o substrato, essas três porções da proteína iniciam o processo catalítico.

Figura 1.4.1 – A Tríade Catalítica.

¹⁵ Theil, F. *Chem. Rev.* **1995**, 95, 2203-2227.

¹⁶ (a) Wikteliu, D. *Synlett* **2005**, 13, 2113-2114. (b) Ghanem, A.; Aboul-Enein, H. Y. *Chirality* **2005**, 17, 1-15. (c) Patel, R. N.; Banerjee, A.; Nanduri, V.; Goswami, A.; Comezoglu, F. T. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2000**, 77, 1015-1019.

Estes três resíduos de aminoácidos se encontram em uma estrutura tridimensional que os deixa próximos uns dos outros, e isso faz com que o pKa do hidrogênio do resíduo de serina diminua. Assim, em um primeiro passo o aspartato removeria um hidrogênio do anel imidazol da histidina, que por sua vez removeria o hidrogênio em questão da serina. Esta porção de serina promove o ataque nucleofílico ao substrato – representado por um éster – gerando uma molécula de álcool e o *Complexo Acil-Enzima*. Em um segundo momento, este complexo gerado é atacado por um nucleófilo presente no meio reacional, a tríade catalítica assume a sua configuração inicial e uma molécula do produto é liberada. A classe do produto formado depende da classe do nucleófilo responsável pelo ataque ao complexo acil-enzima (Esquema 1.4.1).

Esquema 1.4.1 – Mecanismo de ação das serina hidrolases.

Passo 1:

Passo 2:

Este mecanismo de ação das lipases aparece em grande parte da literatura^{1, 12} disponível, no entanto, esta é uma forma abreviada de representação do que realmente acontece em uma enzima no meio reacional e pode gerar algumas questões que aparentemente ficariam sem resposta. Por exemplo, no passo 1, qual é a origem do H do álcool formado (R^2OH)?

Dessa forma, se nos aprofundarmos um pouco mais em termos de mecanística reacional, encontramos propostas que levam em consideração principalmente as ligações de hidrogênio e os intermediários tetraédricos¹⁷

Na forma de enzima livre já existem interações via hidrogênio do aspartato com a histidina, da histidina com a serina. Ao reagir com um substrato 1 – representado pelo acetato de vinila – os pares de elétrons assumem diferentes localizações do que na forma livre, gera-se uma carga positiva no anel imidazol – estabilizada por ressonância – e um primeiro intermediário tetraédrico. Após a movimentação de elétrons, ocorre a liberação de uma molécula de álcool – a qual pode tautomerizar para o composto carbonílico – e a formação do complexo acil-enzima. Dando seqüência, o complexo acil-enzima é atacado por um nucleófilo – representado por um álcool – e origina um segundo intermediário tetraédrico. Por fim, temos a liberação do produto de interesse e regeneração da enzima livre, pronta para iniciação de um novo ciclo catalítico (Esquema 1.4.2).

Um aspecto secundário, porém não menos importante, é a presença de um *oxyanion hole*, que nada mais é do que uma cavidade existente na enzima que possui a habilidade e função de estabilizar o oxianion formado nos intermediários tetraédricos.¹⁸ Esta estabilização se dá através de ligações de hidrogênio realizadas por resíduos de glutamina e treonina.

¹⁷ Bommarius, A. S.; Riebel, B. R. *Biocatalysis*, WILEY-VCH, Weinheim, **2004**.

¹⁸ (a) Orrenius, C.; Hæffner, F.; Rotticci, D.; Oehmer, N.; Norin, T.; Hult, K. *Biocatal. Biotransform.* **1998**, *16*, 1-15. (b) Kwon, Hoon, C.; Shin, D. Y.; Lee, J. H.; Kim, S. W.; Kang, J. W. *J. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, *17*, 1098-1105.

Esquema 1.4.2 – Ciclo catalítico mais detalhado de uma lipase. **Figura 1.4.2** – Estabilização do oxianion.

1.5 – ASPECTOS TERMODINÂMICOS

Baseado em cálculos de modelo molecular e simulação de dinâmica molecular, Kang e colaboradores^{18b} traçaram um perfil energético de uma reação enzimática. Utilizando métodos computacionais foi possível determinar as energias conformacional e relativa e relacioná-las com os passos reacionais. O perfil completo da reação enzimática e os pontos significantes são apresentados na figura 1.5.1. Se confrontarmos a figura 1.5.1 (perfil energético) com o esquema 1.4.2 (ciclo catalítico), observamos que as propostas se complementam.

Figura 1.5.1 – Perfil energético de uma reação enzimática.

Onde os pontos marcados correspondem ao estágio:

- A)** 1º Substrato;
- B)** Interação substrato/enzima;
- C)** Intermediário Tetraédrico I;
- D)** Liberação do complexo acil-enzima;
- E)** Complexo Acil-Enzima;
- F)** Interação complexo acil-enzima e 2º substrato;
- G)** Intermediário Tetraédrico II;
- H)** Interação enzima/produto;
- I)** Liberação do produto.

Levando-se em consideração uma resolução cinética enzimática, onde a enzima aplica a sua habilidade de diferenciar enantiômeros, podemos desenhar um panorama energético, porém agora em termos de enantiosseletividade.¹ Como a enzima é quiral, é plausível que ao reagir com um racemato, as barreiras potenciais terão diferentes magnitudes para cada isômero óptico. Assim, admitindo que um enantiômero (S) possua uma estereoisomeria mais favorável a reação com a enzima, teríamos a situação discriminada na figura 1.5.2. A situação contrária – desfavorecida – seria a representada pelo caminho tracejado. Ou seja, ao término da reação, seriam obtidos o substrato (R), sem modificação química, e o substrato (S), modificado quimicamente, ambos enantiomericamente enriquecidos ou puros.

Figura 1.5.2 – Diagrama termodinâmico enantiosseletivo.

Para melhor compreender a questão da enantiosseletividade enzimática é imprescindível a discussão sobre a *Regra de Kazlauskas*. Este assunto será abordado no próximo tópico.

1.6 – A REGRA DE KAZLAUSKAS

Em 1991, Kazlauskas e colaboradores¹⁹ desenvolveram uma regra empírica para a resolução de álcoois secundários. Esta regra prevê qual enantiômero constituinte de um racemato reagirá mais rapidamente com uma lipase ou uma esterase. Esta proposta está baseada fundamentalmente no efeito estérico de cada grupo substituinte do álcool em questão e em estruturas de raio-X de enzimas.

Através da análise de estruturas enzimáticas, foi admitida a presença de duas porções hidrofóbicas, uma de tamanho grande e outra média – em inglês chamadas de *large hydrophobic pocket* e *medium hydrophobic pocket* – e estas seriam as porções responsáveis pela “acomodação” dos grupamentos substituintes de um álcool secundário durante uma reação enzimática. Naturalmente, um grupo de tamanho médio se acomodará na porção hidrofóbica média e um grupo de tamanho grande se acomodará na porção hidrofóbica grande.

Figura 1.6.1 – a) Representação das duas porções hidrofóbicas da enzima.

b) Esquematização do encaixe álcool/enzima.

¹⁹ (a) Kazlauskas R. J.; Weissfloch, A. N. E.; Rappaport, A. T.; Cuccia, L. A. *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 2656–2665. (b) Cygler, M.; Grochulski, P.; Kazlauskas, R. J.; Schrag, J. D.; Bouthillier, F.; Rubin, B.; Serreqi, A. N.; Gupta, A. K. *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 3180–3186•

É importante enfatizar que este postulado não possui vínculo com a configuração *R* ou *S*, mas sim estritamente com o tamanho dos grupos. Adicionalmente, a regra vale apenas para reações com álcoois secundários e algumas aminas primárias de estrutura $\text{H}_2\text{NCHR}^1\text{R}^2$; embora lipases também catalisem a hidrólise enantiosseletiva de álcoois primários, lactonas, ácidos carboxílicos, esta regra não se aplica a estas classes. Recentemente, Jing e Kazlauskas publicaram uma revisão bibliográfica onde está contida uma vasta série de substratos resolvidos por lipases, bem como passos a serem seguidos para a previsão de enantiosseletividade de uma lipase e precauções que devem ser tomadas ao atribuir um comportamento enzimático em uma resolução.²⁰

²⁰ Jing, Q.; Kazlauskas, R. J. *Chirality* **2008**, 20, 724-735.

2.Revisão Bibliográfica e Objetivos

Uma pesquisa na literatura sobre a resolução cinética de álcoois propargílicos nos revelou que este campo apresenta poucos relatos. O foco dos estudos de biotransformação consistem principalmente na redução assimétrica dos análogos compostos carbonilados ou a resolução cinética de moléculas relativamente simples ou pouco funcionalizadas. A seguir, apresentamos alguns destes trabalhos.

Em 1992, Oehlschlager e colaboradores²¹ estudaram o efeito das insaturações adjacentes em resoluções de uma grande variedade de álcoois secundários, dentre os quais constam exemplos de álcoois propargílicos sendo resolvidos com bastante eficiência. A enzima utilizada foi a lipase de pâncreas suíno. No entanto, todos os álcoois estudados continham as ligações triplas internas, ou seja, substituídas com dois grupos diferentes de hidrogênio. Os exemplos estão mostrados no esquema 2.1.

Esquema 2.1 – Resolução cinética de Oehlschlager e col..

Em 1996, Schenider e col.²² estudaram o comportamento de álcoois aril propargílicos, utilizando uma gama de enzimas. Nesse estudo, os autores realizaram a acetilação enantiosseletiva dos álcoois, porém obtiveram resultados insatisfatórios. Desse modo, optaram pela hidrólise enantiosseletiva dos ésteres, obtendo bons excessos enantioméricos, rendimentos e enantiosseletividades. Os resultados estão resumidos no esquema 2.2.

²¹ Morgan, B.; Oehlschlager, A. C.; Stokest, T. M. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 3231-3236.

²² Waldinger, C.; Schneider, M.; Botta, M.; Corelli, F.; Summa, V. *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, 7, 1485-1488.

Esquema 2.2 – Acetilação e Hidrólise de Schenider e col..

Em 2003, Clapés e col.²³ promoveram a resolução cinética de 1-octin-3-ol (tripla terminal) utilizando doze enzimas diferentes imobilizadas em polipropileno poroso. Adicionalmente, os autores utilizaram o mesmo sistema reacional para a resolução de uma molécula que continha a ligação tripla interna e um álcool protegido no final da cadeia carbônica.

Esquema 2.3 – Resoluções de Clapés e col..

²³ Abad, J.; Soldevila, C.; Camps, F.; Clapés, P. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 5351-5356.

Também em 2003, Ma e col. publicaram dois artigos onde o primeiro relata a resolução de álcoois propargílicos contendo uma porção alênica em sua estrutura²⁴ e o segundo a resolução de álcoois aril-propargílicos substituídos.²⁵ Em ambos trabalhos, os autores alcançam altos excessos enantioméricos e índices de seletividade (Esquema 2.4).

Esquema 2.4 – Trabalhos de Ma e col..

No ano seguinte, nosso grupo de pesquisa publicou um trabalho onde está relatada a resolução cinética enzimática de álcoois propargílicos substituídos com grupamentos arila, alquila ou alila.²⁶ Foram obtidos excelentes valores para a seletividade e altos excessos enantioméricos (Esquema 2.5).

²⁴ Xu, D.; Li, Z.; Ma, S. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, 14, 3657–3666.

²⁵ Xu, D.; Li, Z.; Ma, S. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 6343–6346.

²⁶ Raminelli, C.; Comasseto, J. V.; Andrade, L. H.; Porto, A. L. M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, 15, 3117–3122.

Esquema 2.5 – Trabalho desenvolvido em nosso grupo de pesquisa.

Também em 2004, Mori e col.²⁷ otimizaram a resolução de um álcool propargílico funcionalizado no intuito de sintetizar o feromônio sexual feminino da espécie *Janus integer* (Esquema 2.6).

Esquema 2.6 – Síntese de feromônio utilizando a catálise enzimática.

De forma ainda mais particular, são raros os relatos de hidroxiésteres propargílicos biotransformados por enzimas. Nesse âmbito, foram encontrados na literatura apenas dois artigos onde uma resolução de hidroxiéster foi utilizada como ferramenta sintética para a obtenção de leukotrienos.^{28,29} Outra via de obtenção dessa classe de compostos de forma opticamente ativa foi realizada por

²⁷ Shibata, C.; Mori, K. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 5, 1083-1088.

²⁸ Pontikis, R.; Randrianosolo, L. R.; Le Merrer, Y.; Nam, N. H.; Azerad, R.; Depezay, J. *Can. J. Chem.* **1989**, *67*, 2240-2242.

²⁹ Treilhou, M.; Fauve, A.; Pougny, J.; Promé, J.; Veschambre, H. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 3203-3208.

Phillips e col.,³⁰ onde os análogos compostos carbonilados foram submetidos a redução assimétrica promovida por uma álcool desidrogenase (Esquema 2.7).

Esquema 2.7 – Obtenção de hidroxiésteres propargílicos opticamente ativos.

Ratificando os poucos relatos na literatura de substratos propargílicos atrelados a biocatálise; somando a experiência do nosso grupo em catálise enzimática, para uma variada classe de compostos^{26, 31, 32, 33}, atentamos para a resolução de hidroxiésteres propargílicos.

Os hidroxiésteres propargílicos são compostos trifuncionalizados, desse modo, podem ser transformados em diversas outras formas moleculares. Em outras palavras, são interessantes intermediários sintéticos – comumente chamados blocos de construção – de moléculas biologicamente ativas como fármacos e feromônios. Assim, no presente trabalho propomos a resolução cinética enzimática dos hidroxiésteres propargílicos mostrados na figura 2.1.

Figura 2.1 – Hidroxiésteres propargílicos a serem resolvidos.

³⁰ Heiss, C.; Phillips, R. S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **2000**, 1, 2821-2825.

³¹ Gariani, R.; Comasseto, J. V. *Tetrahedron* **2009**, no prelo.

³² Costa, C. E.; Clososki, G. C.; Barchesi, H. B.; Zanotto, S. P.; Nascimento, M. G.; Comasseto, J. V. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, 15, 3945-3954

³³ Dos Santos, A. A.; Costa, C. E.; Princival, J. L.; Comasseto, J. V. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, 17, 2252-2259.

De modo complementar, gostaríamos de desenvolver rotas sintéticas para a preparação de moléculas bioativas, utilizando os hidroxíésteres apresentados na figura 2.1. Citamos a goniotalamina, a argetilactona, a buibuilactona e a japonilura como exemplos de moléculas bioativas (Figura 2.2).

Figura 2.2 – Moléculas biativas.

3. Resultados e Discussão

3.1 – PARTE ENZIMÁTICA

Os referidos hidroxiésteres da figura 2.1 foram preparados após três passos reacionais, porém, suas sínteses serão abordadas na seção 3.2 – Parte Sintética.

De posse dos hidroxiésteres **1**, **2** e **3**, partimos para a otimização de um sistema ideal para a resolução dos respectivos centros estereogênicos. Essa otimização compreendia todas as variáveis da reação de resolução, tais como:

- Solvente ou uma mistura de solventes bem como as suas quantidades;
- Quantidade do doador de acila;
- Influência da temperatura;
- Avaliação do melhor biocatalisador (enzima);
- Averiguação do melhor tempo reacional.

Figura 3.1.1 – Hidroxiésteres utilizados.

Iniciamos o desenvolvimento das resoluções pela escolha do melhor solvente ou sistema de solvatação. Utilizando a CAL-B como enzima e o hidroxiéster **1** como substrato modelo, escolhemos o hexano como solvente para iniciarmos os testes. Esta escolha está amparada em estudos prévios em nosso laboratório que demonstraram que o hexano é um excelente solvente para a resolução.³²

Esquema 3.1.1 – Reação para otimização do solvente.

Devido suas estruturas conterem uma hidroxila e um carboxilato, os hidroxiésteres são um tanto quanto polares, sendo apenas parcialmente solúveis

em hexano. Esse fator não nos impediu de efetuarmos uma resolução utilizando apenas o hexano, na qual obtivemos bons excessos enantioméricos, tanto para a forma alcoólica **1a** como para a forma acetilada **1b**. Investigamos a presença de um co-solvente polar – para uma solubilização eficiente do substrato – e miscível em hexano. Além do THF, já usado com sucesso em trabalhos anteriores,²⁶ buscamos solventes com um alto valor de log P.

Este termo – log P – é o logaritmo do coeficiente de partição, que por sua vez é um dos indicadores de hidrofobicidade do solvente em questão. Este fator é o que apresenta a melhor correlação com a atividade enzimática, sendo essa correlação diretamente proporcional, ou seja, quanto maior for o valor para log P, melhor será o desempenho da enzima no meio.³⁴

Tabela 3.1.1 – Otimização do solvente.

Entrada	Mistura de Solventes (v:v)	t (h)	e.e. ^a 1a (%)	e.e. ^a 1b (%)
1	Hexano	6	77,6	95,6
2	THF/Hexano (1:2)	6	24,8	91,0
3	THF/Hexano (1:9)	6	36,0	87,4
4	THF/Hexano (1:19)	4	91,0	94,6
5	THF/Hexano (1:99)	6	72,2	91,2
6	CHCl ₃ /Hexano (1:19)	6	43,0	94,4
7	TEA/Hexano (1:19)	6	17,0	62,2
8	MTBE/Hexano (1:19)	6	50,0	85,3
9^b	THF/Hexano (1:19)	3	92,8	93,6
10 ^b	[BMIM][PF ₆]/Hexano (1:19)	6	82,4	94,6

^a e.e. determinados por cromatógrafo gasoso equipado com coluna quiral β-ciclodextrina.

^b Utilizou-se 5 mL da mistura de solventes. Nas demais reações, utilizou-se 10 mL.

³⁴ Lima, A. W. O.; Agnes, L. *Química Nova* **1999**, 22, 229-245.

Trabalhamos em diferentes proporções de THF em hexano e selecionamos mais quatro co-solventes – CHCl_3 , TEA, MTBE e o líquido iônico [BMIM][PF₆] – e também reduzimos a quantidade de solvente utilizada. Os resultados da otimização de solventes está apresentado na tabela 3.1.1.

Variamos quatro diferentes proporções de THF em hexano, sendo 1:19 a mistura que apresentou resultados mais satisfatórios (entradas 2 a 5). Utilizando esta mesma porcentagem do co-solvente, estendemos o estudo a mais 3 exemplos com maior valor de $\log P$ ³⁵, porém os resultados obtidos ficaram aquém do esperado, não superando o desempenho do THF (entradas 6 a 8). Por fim, reduzimos a quantidade de solvente a metade e obtivemos excelentes excessos enantioméricos e com menores tempos de reação (entrada 9). Ainda realizamos um teste utilizando o líquido iônico [BMIM][PF₆] como co-solvente, o qual se demonstrou muito eficaz para a reação (entrada 10), no entanto, julgamos que nossa melhor condição tenha sido a demonstrada na entrada 9.

Outro ponto que vale destacar é o tempo reacional; obviamente que os tempos demonstrados na tabela 3.1.1 não são a duração total da reação. Marcado o tempo em que a reação tinha o seu início, eram removidas alíquotas de hora em hora – geralmente 1h a 12h – as quais eram analisadas por CG-quiral. Assim, os tempos apresentados na tabela acima representam o momento no qual obtínhamos os maiores excessos enantioméricos para as formas **1a** e **1b**.

Antes de darmos seqüência à descrição de nossas resoluções, é necessário introduzirmos o termo *conversão*. Este termo demonstra o andamento de uma reação, e em uma resolução cinética é ideal que a reação seja finalizada ao alcançar o patamar de 50%. A conversão (c) pode ser facilmente calculada a partir dos excessos enantioméricos do substrato (e.e._s) e do produto (e.e._p) através da equação abaixo.

$$c = \frac{e.e._s}{(e.e._s + e.e._p)}$$

³⁵ Valores de $\log P$: THF (0,49), TEA (1,60), CHCl_3 (2,0) e MTBE (1,14).

Outro aspecto que deve ser observado nas resoluções é a espécie do doador de acila utilizado. Conforme exemplos demonstrados no capítulo 2, as enzimas podem atuar nas reações de acetilação ou hidrólise. Ao observar o mecanismo do esquema 1.4.2, percebe-se que a direção está representada em apenas um sentido – de acetilação – porém esta direção pode ocorrer no sentido reverso – de hidrólise. A principal estratégia utilizada pelos químicos consiste no emprego de enol-ésteres. Isso faz com que o álcool eliminado após a formação com complexo acil-enzima seja uma espécie vinílica; álcoois vinílicos são relativamente instáveis, encontrando-se em equilíbrio com o respectivo composto carbonilado através de uma rápida tautomerização. Este equilíbrio está deslocado para a formação do carbonilado, que por sua vez não participa mais da reação de resolução (esquema 3.1.2). Simplificando, a utilização de enol-ésteres como doadores de acila propicia a irreversibilidade da reação de resolução.¹²

Esquema 3.1.2 – Irreversibilidade da reação.

Os próximos testes investigaram a influência da quantidade do doador de acila e a temperatura ideal para a reação. Já havíamos encontrado uma condição onde usamos 2 equivalentes de acetato de vinila (doador de acila) em uma temperatura de 30 °C (tabela 3.1.1, entrada 9). Para fins comparativos, apresentamos novamente esta condição na tabela 3.1.2, entrada 1. Dobrando-se a quantidade de acetato de vinila, também obtivemos excelentes excessos enantioméricos, porém em 1 hora a menos de reação; entrada 2. Calculando-se a conversão das duas reações, temos um valor muito próximo de 50%, que é o ideal. Paralelamente, realizamos um acréscimo de 10 °C com uma variação do número de equivalentes do acetato de vinila.

Utilizando 2 equivalentes de acetato de vinila, em uma temperatura de 40 °C, obtivemos altos excessos enantioméricos, porém, levemente menores para o produto **1b**; entrada 3. Já com 4 equivalentes de acetato de vinila e também em 40 °C, em apenas 1 hora de reação, obtivemos altos valores de e.e., no entanto, fica nítido que a aceleração da reação acarretou numa perda de seletividade; entrada 4. Desse modo, avaliamos que a condição ideal seja a apresentada na entrada 2.

Esquema 3.1.3 – Reação para otimização da quantidade de doador de acila e temperatura.

Tabela 3.1.2 – Variação da quantidade de doador de acila e temperatura.^a

Entrada	T (°C)	Ac. Vinila (eq.)	t(h)	ee ^b 1a (%)	ee ^b 1b (%)	c ^c (%)
1	30	2	3	92,8	93,6	49,8
2	30	4	2	95,0	91,0	51,1
3	40	2	2	93,3	91,0	50,6
4	40	4	1	88,2	90,4	49,4

^a Utilizou-se 5 mL da mistura de solventes e 15 mg de CAL-B.

^b e.e. determinados por cromatógrafo gasoso equipado com coluna quiral β-ciclodextrina.

^c Calculado pela equação: $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$.

Finalmente, partimos para a variação das enzimas utilizadas. Utilizando a melhor condição acima descrita, empregamos outras cinco lipases que também possuem a habilidade de resolver álcoois secundários. São elas: *Mucor miehei*³⁶ (MML), *Pseudomonas cepacia* (PSC), *Pseudomonas sp.* (PSL), *Candida rugosa* (CRL) e pâncreas suíno (PPL).

³⁶ Também conhecida como *Rhizomucor miehei* (RML).

De maneira análoga ao ponto anterior, novamente apresentamos a eficiência da CAL-B (tabela 3.1.3, entrada 1), comparando com as demais enzimas utilizadas. Vale lembrar que assim como a CAL-B, a MML e a PSC usadas estavam na forma imobilizada, enquanto a PSL, a CRL e a PPL estavam em suas formas livres.

Esquema 3.1.4 – Variação das lipases.

Tabela 3.1.3 – Lipases testadas.^a

Entrada	Lipase (mg) ³⁷	t (h)	e.e. ^b 1a (%)	e.e. ^b 1b (%)
1	CAL-B (15)	2	95,0	91,0
2	PSL (5)	24	<10	81,4
3	MML (15)	24	<10	-
4	CRL (20)	24	44,0	58,4
5	PPL (20)	24	<10	-
6	PSC (15)	4	34,5	<10

^a Reações utilizando 5 ml da mistura de solventes e 4 eq. de acetato de vinila.

^b e.e. determinados por cromatógrafo gasoso equipado com coluna quiral β-ciclodextrina.

Em relação aos tempos reacionais apresentados na tabela acima, nas entradas 2 a 5, acompanhou-se a evolução da resolução, através da remoção de alíquotas, durante 12 horas e, como os resultados ainda não eram satisfatórios, manteve-se a reação até completar 24 horas. A lipase PSL forneceu o produto **1b** com um bom e.e., no entanto o substrato **1a** apresentava-se praticamente na forma racêmica, mesmo após 24 horas de reação (entrada 2).

³⁷ Utilizaram-se quantidades iguais para as enzimas imobilizadas (CAL-B, MML e PSC). Para as enzimas livres (PSL, CRL e PPL) utilizaram-se quantidades indicadas conforme protocolo padrão do fornecedor para resolução de álcoois secundários – <http://www.roche-applied-science.com/pack-insert/1859366a.pdf>

Ao utilizar a MML e a PPL, não foi detectada a formação de **1b** e após as 24 horas, observou-se um e.e. menor que 10% para **1a**. A análise em cromatografia de camada delgada revelou a formação de subprodutos na reação, porém não observou-se a formação do acetato **1b** (entradas 3 e 5). Utilizando-se a CRL, após 24 horas de reação, obteve-se as formas **1a** e **1b** com moderados e.e. (entrada 4). A PSC também se demonstrou ineficiente para a resolução; com 4 horas de reação o álcool **1a** apresentou um baixo e.e. e o acetato **1b** um e.e. menor que 10%, no entanto, em 6 horas de reação pôde-se detectar o consumo total da forma alcoólica e a racemização completa do acetato.

Quanto as suas seletividades, as enzimas CAL-B e PSL realizaram a acetilação do mesmo enantiômero, enquanto as enzimas CRL e PSC demonstraram a preferência de acetilação do outro isômero óptico.

Este estudo confirmou que a CAL-B é a enzima mais adequada para a resolução cinética do hidróxiéster e finalizou a busca pela melhor condição da reação – 5 mL de uma mistura de THF/hexano 1:19, 15 mg de CAL-B, 4 equivalentes de acetato de vinila e 30 °C. para 0,1 mmol do hidróxiéster em questão.

A seguir, apresentamos algumas figuras que mostram a estrutura geral da CAL-B e o seu sítio ativo.

Figura 3.1.2 – Visão geral da CAL-B (esquerda) e sítio ativo da enzima (direita).^{18b}

Figura 3.1.3 – Representação da estrutura cristalina da CAL-B.³⁸

Um outro fator importante em resoluções é a *razão enantiomérica*. Este termo é representado por E e descreve, em termos numéricos, a seletividade da enzima. Um alto valor de E representa uma alta preferência da enzima reagir com um determinado enantiômero exclusivamente. Uma E ideal deve ter um valor acima de 20, ou preferencialmente acima de 50.¹ A razão enantiomérica pode ser calculada através dos e.e. do substrato (e.e._s) e do produto (e.e._p), aplicando na equação abaixo.

$$E = \frac{\ln \frac{[e.e._p(1-e.e._s)]}{(e.e._p+e.e._s)}}{\ln \frac{[e.e._p(1+e.e._s)]}{(e.e._p+e.e._s)}}$$

³⁸ Uppenberg, J.; Hansen, M. T.; Patkar, S.; Jones, T. A. *Structure* **1994**, 2, 293-308.

Plotando-se em um gráfico o e.e._s e o e.e._p em função da conversão podemos analisar graficamente o comportamento de uma resolução cinética. O ponto de intersecção entre as duas curvas equivale ao valor de E; quanto mais alto for esse ponto, maior será o valor de E.¹² A figura 3.1.4 nos mostra um exemplo de gráfico com a evolução de reação para o substrato (S) e produto (P).

Figura 3.1.4 – Panorama gráfico de uma resolução.

Dessa maneira, plotamos nossos valores de e.e. e de conversões da nossa melhor condição (tabela 3.1.3; entrada 1) em um gráfico, resultando no panorama mostrado na figura 3.1.5. O valor de E para esta resolução foi de 146.

Figura 3.1.5 – Comportamento gráfico de resolução do hidróxiéster 1.

Repetimos a melhor resolução, porém em maior escala. Todas as condições de otimização foram feitas utilizando 0,1 mmol de substrato; esta de maior escala, utilizamos 2 mmol. O objetivo era calcular o rendimento de nossa resolução e determinar a configuração absoluta dos compostos **1a** e **1b**, via análise polarimétrica e comparação com a literatura.

Esquema 3.1.5 – Reação em maior escala para o hidroxiéster **1**.

Conforme condição mostrada na tabela 3.1.2; entrada 2, ao otimizar as condições, o ponto de 50% de conversão foi levemente ultrapassado, assim, nesta reação em maior escala tomamos o cuidado de parar a reação 10 minutos antes de se completarem as 2 horas reacionais. Conforme mostrado no esquema 3.1.5, conseguimos uma conversão de 50%. Além disso, obtivemos um bom rendimento para a reação; 42% para **1a** e 41% para **1b**. Cabe salientar que o rendimento teórico de uma resolução cinética enzimática é de 50%.

Finalmente, realizamos a análise polarimétrica; submetendo a forma alcoólica **1a** à análise, obtivemos um $[\alpha]_D = +5,0$ e comparando com a literatura³⁰ verificamos que tratava-se do enantiômero (*R*). A análise do acetato **1b** forneceu um $[\alpha]_D = -41,2$; o enantiômero (*S*). Com o intuito de comprovar a configuração do acetato **1b**, realizamos uma desproteção química empregando K_2CO_3 e metanol, onde obtemos a molécula **1a**, porém com configuração invertida. Esta última reação nos forneceu um rendimento quantitativo do álcool e a análise polarimétrica forneceu um $[\alpha]_D = -5,2$, confirmando que tratava-se do enantiômero (*S*) (esquema 3.1.6).

Esquema 3.1.6 – Análise Polarimétrica

A seguir apresentamos a análise de cromatografia gasosa realizada na resolução do hidroxiéster **1**. Após utilizar diferentes colunas quirais, várias rampas de aquecimento e diferentes pressões, não obtivemos sucesso na tentativa de separação do substrato e produto. A separação dos enantiômeros do hidroxiéster **1** não foi possível, além disso, o tempo de retenção na análise para a forma alcoólica e acetilada era praticamente o mesmo. No entanto, a forma acetilada **1b** foi separada de forma eficiente utilizando uma coluna quiral de β -ciclodextrina, uma rampa de aquecimento 110-180 °C e uma pressão de 100 kPa. Desta forma, cada alíquota da resolução foi aplicada e separada em cromatografia de camada delgada; a forma acetilada era injetada no CG e a forma alcoólica era submetida a uma acetilação química com anidrido acético e piridina para posterior injeção. Abaixo apresentamos os cromatogramas da mistura racêmica, bem como das formas acetilada e alcoólica derivatizada (figura 3.1.6).

Results - Peak Table

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	17.595	218299.6	30399.9	4.47941
2	18.058	4655099.1	425826.6	95.52059

Results - Peak Table

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	17.653	1400774.2	152413.4	97.44955
2	18.241	36661.0	4622.5	2.55045

Figura 3.1.6 – Análises de Cromatografia Gasosa.

Dando continuidade ao trabalho proposto, buscamos uma condição ótima para a resolução do hidroxiéster **2**. Vale lembrar a melhor condição encontrada para a resolução do hidroxiéster **1**: 5 mL de uma mistura 1:19 de THF/hexano, emprego de CAL-B como catalisador, temperatura de 30 °C e 4 equivalentes de acetato de vinila para uma quantidade de 0,1 mmol do substrato. Assim, tornava-se plausível a utilização desta mesma condição para a reação com **2**.

Figura 3.1.7 – Hidroxiéster **2**.

Aplicando a condição descrita no parágrafo anterior, obtivemos bons e.e. para **2a** e **2b** em um tempo reacional de 2 horas, ficando muito próximo dos 50% de conversão (tabela 3.1.4, entrada 1). Buscamos uma condição onde pudéssemos aumentar os valores de e.e. para a reação, sendo assim, reduzimos a metade a quantidade de enzima utilizada e mantivemos iguais os demais parâmetros. Observamos que não ocorreu uma mudança significativa nos valores de e.e., porém, o tempo reacional para alcançar um valor próximo de 50% de conversão foi duplicado (tabela 3.1.4, entrada 2). No intuito de promover um melhor desempenho da reação, dobramos a quantidade de solvente no meio reacional; teríamos uma resolução mais lenta – devido a maior dispersão das moléculas – e possivelmente mais seletiva. No entanto, após 5 horas de reação, verificamos e.e. com magnitudes similares aos dois casos anteriores (tabela 3.1.4, entrada 3). Em uma última tentativa, dobramos a quantidade de solvente e empregamos 2 equivalentes de acetato de vinila. A idéia seria a mesma da reação apresentada na entrada 3; tornar a reação mais lenta, porém mais seletiva. Infelizmente não obtivemos sucesso nesta tentativa, onde apesar de alcançar um e.e. excelente para **2b**, o composto **2a** foi obtido em 53.5% de e.e. após 2 horas de reação (tabela 3.1.4, entrada 4). As alíquotas de 3, 4, 5 e 6 horas desta reação revelaram um decréscimo no e.e., o que nos mostra uma possível hidrólise do

acetato formado, catalisada pela lipase. Este comportamento já foi descrito para algumas enzimas.¹²

Esquema 3.1.7 – Resolução do hidroxiéster **2.**

Tabela 3.1.4 – Condições de resolução testadas

Entrada	t (h)	Acetato de. vinila (eq.)	CAL-B (mg)	Solvente (mL)	e.e. ^a 2a (%)	e.e. ^a 2b (%)	c ^b (%)
1	2	4	15	5	84,2	84,8	49,8
2	4	4	7,5	5	84,3	85,2	49,7
3	5	4	15	10	83,8	82,0	50,5
4	2	2	15	10	53,5	95,8	35,8

^a e.e. determinados por cromatógrafo gasoso equipado com coluna quiral β-ciclodextrina.

^b Calculado pela equação: $c = e.e._s / (e.e._s + e.e._p)$.

Julgamos que a melhor condição para a resolução do hidroxiéster **2** foi a apresentada na entrada 1, uma vez que: a CAL-B já havia se demonstrado como melhor lipase para esta classe de moléculas, não cabendo a utilização de outras enzimas; o aumento da temperatura e/ou a quantidade de acetato de vinila acarretaria em uma perda de seletividade. As demais reações exigiram um tempo maior de reação ou não forneceram maiores excessos enantioméricos.

Aplicando os valores de e.e. e o progresso da conversão da melhor resolução (tabela 3.1.4; entrada 1) em um gráfico, obtemos o comportamento da reação, mostrado na figura 3.1.8. Vale lembrar que o substrato (S) corresponde a **2a** e o produto (P) corresponde a **2b**. O valor de E para esta resolução foi de 32.

Posto isso, procedemos uma reação em maior escala para a quantificação e determinação da configuração absoluta de **2a** e **2b** via análise polarimétrica (esquema 3.1.8).

Figura 3.1.8 – Comportamento gráfico de resolução do hidroxiéster **2**.

Esquema 3.1.8 – Reação em maior escala para o hidroxiéster **2**

Obtivemos o substrato **2a** e o produto **2b** em bons rendimentos; 41% e 40%, respectivamente. Além disso, os e.e. mantiveram-se nas mesmas ordens de quando a reação fora feita em pequena escala (0,1 mmol). O ponto correspondente aos 50% de conversão também foi respeitado.

Submetemos o substrato **2a** à análise polarimétrica e verificamos um valor para $[\alpha]_D = +6,7$ que, quando comparado com valores da literatura,²⁸ podemos afirmar que tratava-se do enantiômero (*R*). A análise do produto **2b** nos forneceu um $[\alpha]_D = -50,2$, sendo o enantiômero (*S*). Para comprovar a configuração do produto **2b**, realizamos uma desproteção química empregando K_2CO_3 e metanol, obtendo a molécula **2a** de configuração invertida. Esta reação forneceu um

rendimento praticamente quantitativo do álcool (S)-**2a** e a análise polarimétrica forneceu um $[\alpha]_D = -6,2$, confirmando que tratava-se do enantiômero (S) (esquema 3.1.9).

Esquema 3.1.9 – Análise polarimétrica.

A seguir apresentamos a análise de cromatografia gasosa realizada na resolução do hidroxiéster **2**. Em contrapartida ao primeiro caso, foi possível separar as formas alcoólica e acetilada bem como seus enantiômeros numa mesma injeção. Nesta separação utilizou-se uma coluna quiral de β -ciclodextrina, uma rampa de aquecimento 75-180 °C e uma pressão de 105 kPa. Abaixo apresentamos os cromatogramas da mistura racêmica, e de nossa melhor condição de resolução (figura 3.1.9).

Figura 3.1.9 – Análises de Cromatografia Gasosa.

Finalizando a parte enzimática do trabalho, submetemos o hidroxiéster **3** à resolução cinética enzimática. Iniciamos os testes aplicando a melhor condição encontrada para os hidroxiésteres **1** e **2**: 5 mL de uma mistura 1:19 de THF/hexano, CAL-B como catalisador, temperatura de 30 °C e 4 equivalentes de acetato de vinila para uma quantidade de 0,1 mmol de substrato.

Figura 3.1.10 – Hidroxiéster **3**.

O substrato **3**, quando submetido a condição descrita no parágrafo anterior, apresentou um e.e. moderado em 2 horas de reação; tabela 3.1.5, entrada 1. É importante mencionar que mesmo não alcançando o ponto correspondente aos 50% de conversão, a reação foi interrompida em 2,5 horas devido ao fato de que o produto acetilado já se apresentava com um e.e. na ordem de 60% e a forma alcoólica em torno de 50% de e.e., ou seja, no ponto de intersecção de 50% de conversão teríamos um e.e. entre 50 e 60%.

Conforme observado em nossos testes anteriores, o aumento do número de equivalentes de acetato de vinila ou o aumento de temperatura ocasionam uma aceleração na reação, acarretando em uma perda de seletividade. Porém, com o aumento da proporção de THF em hexano, o efeito é contrário; a reação torna-se mais lenta. Assim, optamos por realizar alguns testes com uma proporção maior de THF no intuito de obter maiores excessos enantioméricos. Foram mantidos os 4 equivalentes de acetato de vinila, a temperatura de 30 °C e 15 mg de CAL-B (esquema 3.1.10).

Trabalhando com uma mistura 1:9 THF/hexano, observamos que em 2 horas de reação já havíamos ultrapassado a conversão de 50%, obtendo e.e. moderados; cerca de 60 % para cada composto. Empregando a mistura 1:3 THF/hexano, verificamos a necessidade de 5 horas de reação para atingir a proximidade da conversão desejada e obtemos e.e. muito similares quando

utilizamos 1:9 THF/hexano. Utilizando uma mistura de solventes de proporção 1:1 THF:hexano, a reação se procedeu de maneira muito lenta; após 5 horas, os e.e. ainda encontravam-se com valores distantes, ou seja, correspondente a uma pequena conversão (tabela 3.1.5, entradas 2 a 4).

Decidimos submeter a reação utilizando apenas hexano como solvente, mesmo sabendo da solubilidade parcial do hidroxiéster neste meio. Surpreendentemente, observamos um acréscimo nos valores de e.e. e em apenas 1 hora de reação a conversão de 50% foi obtida (tabela 3.1.5, entrada 5).

Esquema 3.1.10 – Resolução do hidroxiéster **3**.

Tabela 3.1.5 – Condições de resolução testadas.

Entrada	THF/Hexano (v:v) ^a	t (h)	e.e. ^b 3a (%)	e.e. ^b 3b (%)	c ^c (%)
1	THF/Hexano (1:19)	2	54,8	64,8	45,8
2	THF/Hexano (1:9)	2	60,2	53,7	52,8
3	THF/Hexano (1:3)	5	60,7	57,6	51,3
4	THF/Hexano (1:1)	5	36,8	83,2	30,6
5	Hexano	1	66,6	67,4	49,7

^a Utilizou-se 5 mL da mistura de solvente.

^b e.e. determinados por cromatógrafo gasoso equipado com coluna quiral β-ciclodextrina.

^c Calculado pela equação: $c = \frac{e.e.s}{(e.e.s + e.e.p)}$.

Sendo assim, julgamos que a melhor condição para a resolução cinética do hidroxiéster **3** seja a apresentada na entrada 5, onde encontramos e.e. moderados, porém maiores que nos outros testes e ainda diminuimos pela metade o tempo necessário para a resolução. Para os hidroxiésteres **1** e **2**, 2 horas de reação; neste último caso, apenas 1 hora.

Plotando-se os valores de e.e. e o avanço da conversão da melhor resolução (tabela 3.1.5; entrada 5) em um gráfico, obtemos o comportamento da

reação, mostrado na figura 3.1.11. O valor de E encontrado para esta resolução foi de 9.

Figura 3.1.11 – Comportamento gráfico de resolução do hidróxiéster 3.

Como podemos observar no gráfico acima, o comportamento desta resolução foi diferente dos demais casos. Temos um ponto de intersecção muito próximo da conversão de 50% e a curva referente ao produto (P) exibe um comportamento normal. No entanto, a curva do substrato (S) se apresenta também em uma decrescente, demonstrando um comportamento anômalo. Esta anomalia pode ser explicada pela inversão de reação por parte da enzima. É reportado na literatura¹² que nesse tipo de reações a enzima, que realizava apenas a acetilação no meio reacional, pode começar a realizar uma hidrólise no produto já acetilado. Deste modo, o e.e. do composto acetilado decai rapidamente e o e.e. do álcool atinge um patamar máximo e em seguida começa a decair. É justamente este comportamento que observamos em nosso exemplo, porém, as alíquotas removidas da reação possibilitaram apenas a construção da porção final do gráfico. Por fim procedemos uma reação em maior escala para a quantificação e determinação da configuração absoluta de **3a** e **3b** através de análise polarimétrica (esquema 3.1.11).

Esquema 3.1.11 – Reação em maior escala para o hidroxiéster **3**.

Obtivemos um bom rendimento para a reação em maior escala, 41% para a forma alcoólica e 39% para a forma acetilada, e e.e. de 66,0% e 67,0%, respectivamente. Na análise polarimétrica, encontramos um valor de $[\alpha]_D = +7,2$ para o substrato **3a** que, quando comparado com valores presentes na literatura,³⁰ podemos afirmar que tratava-se do enantiômero (*R*). A análise do produto **3b** nos forneceu um $[\alpha]_D = -45,3$, sendo o enantiômero (*S*). Com o objetivo de comprovar a configuração do produto **3b** e a exemplo do realizado nos dois primeiros casos, realizamos uma desproteção empregando K_2CO_3 e metanol, obtendo a molécula **3a** de configuração invertida. Esta reação forneceu um rendimento de 95% do álcool (*S*)-**3a** e a análise polarimétrica forneceu um $[\alpha]_D = -7,0$, confirmando a presença do enantiômero (*S*) (esquema 3.1.12).

Esquema 3.1.12 – Análise Polarimétrica.

A seguir apresentamos a análise de cromatografia gasosa realizada na resolução do hidroxiéster **3**. Na mesma injeção foi possível a separação das formas alcoólica e acetilada, bem como seus isômeros ópticos. Foi utilizada uma coluna quiral de β -ciclodextrina, uma rampa de aquecimento 80-110 °C e uma pressão de 110 kPa. Abaixo apresentamos os cromatogramas da mistura racêmica, e dos compostos (*R*)-**3a** e (*S*)-**3b** enantiomericamente (figura 3.1.12).

Figura 3.1.12 – Análises de Cromatografia Gasosa.

Vale lembrar que em uma resolução cinética enzimática, trabalhamos para que dois e.e. – do produto e do substrato – atinjam valores mais altos concomitantemente e ainda obter bons rendimentos para as espécies em questão. No entanto, se não levarmos em consideração o rendimento, mas apenas a pureza óptica de cada composto, podemos elevar os valores de e.e.. Este fato pôde ser observado principalmente nos hidroxiésteres **1** e **2**, onde, em determinadas condições e em um certo tempo de reação obtivemos excelentes e.e. para as formas alcoólicas ou para a forma acetilada. Na tabela 3.1.6, apresentamos os maiores e.e. obtidos para as moléculas **1a**, **1b**, **2a** e **2b** juntamente com a condição e o tempo de reação ideal.

Tabela 3.1.6 – Obtenção de maior pureza óptica de **1a**, **1b**, **2a** e **2b**.

Molécula	Condição	t (h)	e.e. ^a (%)
(R)-1a	THF/Hexano 1:19 (5mL), CAL-B (15mg), Acetato de vinila (4eq.), 30 °C.	3	> 99,0
(S)-1b	Hexano (10mL), CAL-B (15mg), Acetato de vinila (2eq.), 30 °C.	2	> 99,0
(R)-2a	THF/Hexano 1:19 (5mL), CAL-B (15mg), Acetato de vinila (4eq.), 30 °C.	5	88,5
(S)-2b	THF/Hexano 1:19 (10mL), CAL-B (15mg), Acetato de vinila (2eq.), 30 °C.	1	99,0

^a e.e. determinados por cromatógrafo gasoso equipado com coluna quirál β-ciclodextrina.

3.2 – PARTE SINTÉTICA

Esta seção abordará a síntese dos hidroxiésteres propargílicos e demonstrará como estas moléculas podem ser empregadas na obtenção de moléculas bioativas.

Os primeiros trabalhos de síntese propriamente dita foi iniciado tendo como objetivo a construção dos hidroxiésteres. Utilizando lactonas comercialmente disponíveis como matéria-prima, procedemos uma reação de metanolise, onde, empregando trietilamina como base, foi possível realizar a abertura destas lactonas. Após esta clivagem, sem prévia purificação, o produto foi submetido a uma oxidação, gerando os oxoésteres **4**, **5** e **6** em bons rendimentos. Esta seqüência reacional está apresentada no esquema 3.2.1.

Esquema 3.2.1 – Síntese de oxoésteres.

De posse dos oxoésteres **4-6**, seria necessário realizar uma reação de adição de uma porção acetilênica à carbonila. Assim, utilizando uma solução de brometo de etil-magnésio e acetileno gasoso, geramos o respectivo composto acetilênico de Grignard, o qual foi posteriormente adicionado à carbonila, de acordo com nosso interesse. Esta reação também foi processada utilizando cloreto de etinil-magnésio comercial, porém não houve mudança significativa nos rendimentos. Como esta reação não é quimiosseletiva, a forma de prevenir a adição também ao grupo éster presente na molécula foi o controle térmico, ou seja, realizando todas as reações em baixas temperaturas. Era observado a adição ao aldeído majoritariamente; as demais possíveis adições eram irrisórias.

Deste modo, obtivemos os hidroxiésteres **1**, **2** e **3** em bons rendimentos (esquema 3.2.2).

Esquema 3.2.2 – Adição da porção acetilênica.

Para as análises de cromatografia gasosa e ressonância magnética nuclear, foi necessário sintetizar os padrões racêmicos tanto dos hidroxiésteres quanto das suas formas acetiladas. Sendo assim, através de uma reação quantitativa e rápida, geramos os respectivos acetatos empregando anidrido acético e piridina (esquema 3.2.3).

Esquema 3.2.3 – Síntese dos acetatos racêmicos.

Feito isso, a parte sintética necessária para desenvolver as resoluções estava pronta, no entanto, gostaríamos de sintetizar moléculas biologicamente ativas utilizando os hidroxiésteres como blocos de construção. A figura 3.2.1 mostra alguns exemplos de moléculas bioativas.

Figura 3.2.1 – Moléculas bioativas.

A goniotalamina é uma representante da família das estilil-lactonas, que são metabólitos comumente isolada de plantas do gênero *Goniiothalamus*. Estudos revelam que estes compostos apresentam propriedades citotóxica e anti-proliferativa a uma variedade de células cancerosas, entre elas, cervicais, gástricas, mamárias, leucêmicas, de ovários, próstata e cólon.^{39,40} Devido a sua interessante atividade, propomos a construção da mesma utilizando os hidroxiésteres propargílicos.

Esquema 3.2.4 – Análise retrossintética da goniotalamina.

Em uma breve análise retrossintética, observamos de que modo a goniotalamina poderia ser obtida. Submetendo o hidroxiéster **2** a uma reação de ciclização, poderíamos obter a correspondente lactona e, através de um acoplamento, adicionaríamos o grupo fenil na molécula. Uma redução da ligação tripla e a geração de um sistema α,β -insaturado e obteríamos a goniotalamina (esquema 3.2.4).

³⁹ (a) de Fátima, A.; Zambuzzi, W. F.; Modolo, L. V.; Tarsitano, C. A. B.; Gadelha, F. R.; Hyslop, S.; de Carvalho, J. E.; Salgado, I.; Ferreira, C. V.; Pilli, R. A. *Chem. Biol. Interact.* **2008**, 176, 143-150.

(b) de Fátima, A.; Kohn, L. K.; de Carvalho, J. E.; Pilli, R. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 622-631.

⁴⁰ Wattanapiromsakul, C.; Wangsintaweekul, B.; Sangprapan, P.; Itharat, A.; Keawpradub, N. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **2005**, 27, 479-487.

A argentilactona é um composto natural isolado de famílias como Aristolochiaceae, Bombaceae e Annonaceae. Esta piranona natural demonstrou ter atividade *in vitro* anti-protozoária contra *Plasmodium falciparum*, *Leishmania panamensis* e *Leishmania amazonensis*, bem como apresentou propriedades citotóxicas a células leucêmicas.⁴¹ Abaixo, apresentamos a análise retrossintética idealizada (esquema 3.2.5).

Esquema 3.2.5 – Retrossíntese da argentilactona.

Observando o esquema 3.2.5, percebemos que a mesma lactona – com uma ligação tripla terminal – proposta para a síntese da goniotalamina poderia ser utilizada para a construção da argentilactona. Seria necessário uma alquilação no C-sp terminal, uma redução da ligação tripla e geração de um sistema α,β -insaturado.

Paralelamente, a japonilura^{5,42} e a buibuilactona⁴³ são feromônios de insetos. Estes feromônios são substâncias responsáveis pela comunicação entre indivíduos de uma mesma espécie. Estas moléculas também poderiam ser obtidas utilizando os hidróxiésteres como intermediário-chave. A seguir, apresentamos a análise retrossintética destes dois compostos (esquema 3.2.6).

⁴¹ de Fátima, A.; Kohn, L. K.; Antônio, M. A.; de Carvalho, J. E.; Pilli, R. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12, 5437-5442.

⁴² Hiscox, W.C.; Matteson, D. S. *J. Organomet. Chem.* **2000**, 614–615, 314–317.

⁴³ Tóth, M.; Subchev, M.; Sredkov, I.; Szarukán, I.; Leal, W. *J. Chem. Ecol.* **2003**, 29, 1643-1649.

Esquema 3.2.6 – Retrossíntese da japonilura e buibuilactona.

Visando as sínteses das moléculas bioativas, iniciamos nossos trabalhos na tentativa de lactonização do hidroxiéster **2**. Em consulta a bibliografia,⁴⁴ a grande maioria dos métodos apresentados para este tipo de reação se vale de uma catálise ácida, utilizando H_2SO_4 ou PTSA. Desta forma, começamos a investigação da melhor condição para ciclização.

Utilizamos H_2SO_4 concentrado ou diluído, em diferentes solventes e temperaturas. Procedemos da mesma forma com a utilização de PTSA, utilizamos aditivo no intuito de promover a reação e também realizamos um teste empregando uma mistura de TFA e água. Infelizmente estas reações não forneceram a lactona **7**.

Realizando uma reação na qual empregássemos uma base, poderíamos então remover o hidrogênio mais ácido da molécula – H da hidroxila – e o alcoolato, por sua vez, seria o responsável pela lactonização. Deste modo, utilizamos bases fortes (BuLi, EtMgBr, NaH) e bases mais fracas (TEA, K_2CO_3). Em duas tentativas empregamos MgCl_2 como aditivo – ácido de Lewis para ativação da carbonila – e realizamos dois testes submetendo o hidroxiéster somente a um determinado aquecimento. Estes últimos dois testes visavam a

⁴⁴ (a) Fukusaki, E.; Senda, S.; Nakazono, Y.; Omata, T. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 6223-6230. (b) Ramachandran, P. V.; Krzeminski, M. P.; Reddy, M. V. R.; Brown, H. C. *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 11-15. (c) Sugai, T.; Ohsawa, S.; Yamada, H.; Ohta, H. *Synthesis* **1990**, *12*, 1112-1114.

evaporação do metanol remanescente de uma reação de ciclização. Igualmente as condições ácidas, nestas últimas reações também não forneceram a lactona **7**.

Esquema 3.2.7 – Reação de lactonização.

Tabela 3.2.1 – Condições de lactonização testadas.

Reação	Condição	Solvente
1 ^a	H ₂ SO ₄ conc.	DCM
2 ^a	H ₂ SO ₄ conc. em refluxo	DCM
3 ^a	PTSA	DCM
4 ^a	PTSA em refluxo	DCM
5 ^b	PTSA em refluxo	Tolueno
6	TFA/H ₂ O 1:1	THF
7	resina ácida (AMBERLIST [®])	THF
8	H ₂ SO ₄ (aq) 10%	THF
9	<i>n</i> -BuLi (1 eq.)	THF
10	EtMgBr (1 eq.)	THF
11	NaH (1 eq.), 0°C	THF
12 ^c	TEA (exc.)	THF
13 ^c	K ₂ CO ₃ (exc.)	THF
14	Aquecimento (85 °C), 12h	-
15	Aquecimento (125 °C), 12h	-

^a Peneira molecular (4Å) como aditivo.

^b Sistema reacional contendo dean-stark.

^c MgCl₂ como aditivo.

Em uma pesquisa sobre metodologias existentes para a ciclização de hidroxiésteres, encontramos um artigo de Soai e col.⁴⁵ no qual está reportado este tipo de reação para substratos de estrutura muito similares aos empregados. A metodologia utilizada pelos autores emprega soluções aquosas de NaOH e H₂SO₄. Sendo assim, submetendo o hidroxiéster **2** a esta reação, obtivemos a correspondente lactona **7** em um alto rendimento (esquema 3.2.8).

Esquema 3.2.8 – Reação de lactonização.

Uma particularidade destas lactonas se refere as suas polaridades. Seria plausível admitirmos que uma molécula cíclica, de estrutura rígida seja mais apolar do que uma molécula que contém uma hidroxila e um grau de rotação muito maior. Na prática, isto não é verdade. Analisando por cromatografia de camada delgada, pode-se perceber nitidamente que a lactona é mais polar do que o hidroxiéster. Fato este que também foi observado por colaboradores do nosso grupo de pesquisa na ocasião da síntese de compostos análogos.

Tomando direção à síntese da goniotalamina, e observando a retrosíntese proposta no esquema 3.2.4, partimos para a reação de acoplamento para inserção do grupo fenila na molécula. Empregamos um acoplamento do tipo Sonogashira,⁴⁶ ou seja, empregando uma catálise de paládio, desejávamos realizar o acoplamento de um haleto de arila e um C-sp de um alcino terminal. Submetendo a lactona **7** ao acoplamento com iodobenzeno, utilizando 10 mol % de Pd(PPh₃)₂Cl₂, 10 mol % de CuI, TEA como base em THF não obtivemos o produto de acoplamento desejado **8**. Fato que se repetiu quando a quantidade de Pd e Cu foram aumentadas a 20 % (esquema 3.2.9).

⁴⁵ Soai, K.; Yokoyama, S.; Hayasaka, T.; Ebihara, K. *Chem. Lett.* **1988**, 5, 843-846.

⁴⁶ Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. *Tetrahedron Lett.* **1975**, 16, 4467-4470.

Esquema 3.2.9 – Acoplamento da lactona **7**.

Desta forma, optamos por testar o acoplamento utilizando o substrato antes da ciclização – molécula **2**. Esta opção foi amparada em uma reação teste na qual empregamos o hidroxiéster **1** e iodobenzeno. Utilizando 20 mol% de Pd e Cu, obtivemos o produto de acoplamento **9** com 90% de rendimento (esquema 3.2.10). Porém, o inconveniente desta metodologia foi o fato de utilizar uma proporção 3:1 hidroxiéster:iodobenzeno.

Esquema 3.2.10 – Acoplamento do hidroxiéster **1** e iodobenzeno.

Partimos para uma otimização desta reação, dando enfoque a uma diminuição da relação alcino:haletos. Estes testes estão apresentados no esquema 3.2.11 e tabela 3.2.2. Empregando uma proporção equimolar dos reagentes, e 15 mol % de Pd e Cu, obtivemos um rendimento de 30 %. Utilizando 1,25 equivalentes do hidroxiéster **2** e 10 mol % de Pd e Cu, dobramos o rendimento, 60%. Quando a porcentagem de catalisador foi de 5 %, não observamos o produto desejado. Conforme relatado anteriormente, tivemos algumas dificuldades na lactonização das moléculas; desta vez, notamos que o produto de acoplamento **10** sofria uma ciclização ainda no tubo para análise de RMN. Este fato pode ser observado pelo espectro de RMN ^{13}C , onde os sinais majoritários correspondem ao produto **10**, e os minoritários, correspondem a molécula **8**. (figura 3.2.2).

Esquema 3.2.11 – Acoplamento do hidroxiéster **2** e iodobenzeno. **Tabela 3.2.2** – Otimização do acoplamento entre **2** e iodobenzeno.

Entrada	Hidroxiéster 2 (eq.)	"Pd" (%)	"Cu" (%)	Rend. 10 (%)
1	1	15	15	30
2	1,25	10	10	60
3	1,25	5	5	-

Figura 3.2.2 – Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) com mistura de **8** e **10**.

Devido a esta ciclização indesejada – nesta etapa da síntese – resolvemos proceder o acoplamento descrito no esquema 3.2.11 gerando o produto **10**, e imediatamente após o término da reação e sem qualquer purificação, promover a condição de lactonização demonstrada no esquema 3.2.8 obtendo a lactona desejada **8**. Realizamos três reações com o objetivo de encontrar uma proporção ideal de hidroxiéster em relação ao iodobenzeno. A seqüência reacional e as reações de otimização estão apresentadas no esquema 3.2.12 e tabela 3.2.3, respectivamente.

Esquema 3.2.12 – Seqüência reacional para a obtenção da lactona **8**.

Tabela 3.2.3 – Otimização da seqüência reacional para obtenção de **8**.

Entrada	Hidroxiéster 2 (eq.)	"Pd" (%)	"Cu" (%)	Rend. 8 (%)
1	1,25	5	5	59
2	1,5	10	10	75
3	2,0	10	10	80

Apesar de termos obtido um rendimento maior na entrada 3, julgamos que nossa melhor condição seja a apresentada na entrada 2, visto que é necessário a utilização de uma proporção menor do substrato.

O próximo passo reacional da síntese da goniotalamina, consistia na formação de uma ligação dupla (*E*), proveniente da porção acetilênica. Uma metodologia clássica encontrada na literatura é o emprego de sódio elementar e amônia líquida.⁴⁷ Também encontramos uma metodologia um tanto quanto branda que empregava lítio metálico em éter etílico.⁴⁸ Redutores mais drásticos, como LiAlH_4 ou Red-Al não podiam ser empregados no intuito de preservar a estrutura da molécula, mais particularmente a carbonila. Infelizmente, quando as reações com os metais alcalinos foram realizadas, não obtivemos o produto desejado. No caso de Na^0 e $\text{NH}_3(\text{l})$, trabalhamos a uma temperatura de $-78\text{ }^\circ\text{C}$, elevada posterior e gradativamente a t.a.; realizamos testes com 2 e 6 equivalentes de Na^0 em relação a lactona **8**. Na utilização de 2 equivalentes, recuperamos todo o material de partida e, com 6 equivalentes, houve o consumo do substrato, porém sem a identificação do produto desejado **11**. Como esta metodologia também é empregada na redução de anéis aromáticos, acreditamos que a redução do grupo fenila se deu preferencialmente a redução da ligação tripla. Quando utilizamos Li^0 , metálico ou disperso em óleo mineral, em éter etílico, acompanhamos a reação por algumas horas e não observamos a formação do produto **11** (esquema 3.2.13).

Esquema 3.2.13 – Tentativas de redução da ligação tripla.

⁴⁷ (a) Furniss, B. S.; Hannaford, A. J.; Smith, P. W. G.; Tatchell, A. R. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, Longman Scientific & Technical, 5th Ed., Harlow, **1989**. (b) Larock, R. C. *Comprehensive Organic Transformations*, VHC, New York, **1989**.

⁴⁸ Maercker, A.; Graule, T.; Girreser, U. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, 25, 167-168.

Ao invés de buscarmos mais metodologias para a redução que originasse a olefina (*E*), utilizamos uma redução de Lindlar, a qual geraria a dupla (*Z*), que posteriormente poderia ser isomerizada seguindo o protocolo de Spencer e col..⁴⁹ Vale lembrar que o catalisador de Lindlar consiste em paládio sobre carbonato de cálcio e envenenado com chumbo. Assim, procedemos estas duas etapas reacionais e obtivemos rendimentos quantitativos em ambas reações (esquema 3.2.14). Esta seqüência reacional possibilitou a obtenção da lactona **11**, a qual é um intermediário sintético avançado da síntese da goniotalamina.

Esquema 3.2.14 – Metodologia de obtenção da lactona **11**.

⁴⁹ Yu, J.; Gaunt, M. J.; Spencer, J. B. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 4627-4629.

Iniciando a síntese da argetilactona, nos valem da lactona **7**, a qual precisaria da inserção de um grupo pentila. Se atentarmos para a estrutura da molécula alvo, percebemos um sistema α,β -insaturado, que poderia ser proveniente da eliminação de selenóxido. Em um primeiro momento, testamos a alquilação e selenação *one-pot*, ou seja, proceder as duas reações em um mesmo sistema. Infelizmente, a reação forneceu muitos subprodutos, tornando-se ineficaz para nossa síntese.

Esquema 3.2.15 – Tentativa de alquilação e selenação *one-pot*.

Repetimos o primeiro passo da reação acima, visando apenas a alquilação do C-sp. Realizando a reação apenas em THF, não identificamos o produto desejado. Quando utilizamos TMEDA como co-solvente – para uma melhor solvatação do diânion formado – foi possível obter o produto desejado, porém com um rendimento de 24%. Empregando HMPA como co-solvente,⁵⁰ obtivemos o produto desejado em 52% de rendimento. Ambos co-solventes foram utilizados na proporção de 6 equivalentes (esquema 3.2.16 e tabela 3.2.4).

Esquema 3.2.16 – Alquilação da lactona **7**.

⁵⁰ Alves, D.; Nogueira, C. W.; Zeni, G. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 8761-8764.

Tabela 3.2.4 – Utilização de co-solvente para a alquilação de **7**.

Reação	Co-solvente	Rend. (%)
1	-	-
2	TMEDA	24
3	HMPA	52

De posse da lactona **13**, avançamos a síntese para a etapa de redução da ligação tripla. Utilizando novamente o catalisador de Lindlar, realizamos esta reação de maneira rápida e quantitativa. Esta última etapa originou um intermediário sintético avançado da argenticlactona.

Esquema 3.2.17 – Redução de Lindlar para a lactona **13**.

De maneira análoga as síntese anteriores, procedemos a construção da Japonilura e Buibuilactona. Estendendo a metodologia de lactonização, poderíamos construir também uma lactona de 5 membros; deveriam ser realizada as devidas alquilações, e posteriores reduções nos levariam a obtenção das moléculas alvo. O esquema 3.2.18 apresenta a reação de ciclização do hidroxiéster **3**.

Esquema 3.2.18 – Formação da lactona de 5 membros.

Após a obtenção da lactona **15**, submetemos a reação de alquilação, seguindo o mesmo protocolo utilizado para a construção do intermediário **13**. Variando o haleto de alquila, originariamos os compostos **16** e **17** (esquema 3.2.19).

Esquema 3.2.19 – Alquilações da lactona **17**.

Finalmente, submetendo as lactonas **16** e **17** a redução de Lindlar, obtivemos a Japonilura e a Buibuilactona em rendimentos praticamente quantitativos. As reações de redução estão apresentadas no esquema 3.2.20.

Esquema 3.2.20 –Obtenção das lactonas **18** e **19**.

Encontramos na literatura⁵¹ o feromônio sexual feminino do besouro *Trogoderma glabrum*, o qual também faz parte da classe de lactonas bioativas. Utilizando como bloco de construção o hidroxiéster **3**, esta lactona poderia ser facilmente sintetizada. Realizando a análise retrossintética, observamos que empregando a reação de lactonização, seguida de uma hidrogenação obteríamos o feromônio em questão.

Figura 3.2.3 - Feromônio sexual feminino de *Trogoderma glabrum*.**Esquema 3.2.21** – Retrossíntese do feromônio de *Trogoderma glabrum*.

⁵¹ Arceo, E.; Odriozola, J. M.; García, J. M.; González, A.; Gil, P. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, 14, 1617-1621.

Desse modo, submetemos o hidroxiéster **3** a condição de lactonização, obtendo a lactona **15** em 92% de rendimento e, empregando uma reação de hidrogenação, utilizando Pd sob carvão como catalisador, a lactona **20** foi obtida em um rendimento quantitativo (Esquema 3.2.22).

Esquema 3.2.22 – Síntese da 4-hexanolida **20**.

Esta última reação comprova a versatilidade dos hidroxiésteres estudados. Através do emprego destes intermediários seria possível sintetizar uma gama de compostos da classe das olidas.

3.3 – CARACTERIZAÇÃO DE MOLÉCULAS

No intuito de certificar a presença de algumas moléculas, algumas considerações serão feitas a respeito da análise das mesmas.

A presença das lactonas foi provada através dos espectros de infra-vermelho, de massas e de ressonância magnética nuclear. Devido ao fato de proceder a reação de ciclização dos hidroxíésteres utilizando uma solução de NaOH, poderíamos obter o produto de hidrólise apenas, ou seja, os correspondentes hidroxíácidos. Se este fato tivesse ocorrido, primeiramente, os espectros de massas revelariam um peso molecular diferente do esperado. Os espectros de infra-vermelho demonstrariam intensas bandas de absorção referentes aos grupos OH, seja da função álcool, ou da função ácido carboxílico. Além disso, nos espectros de RMN deveriam aparecer um H do ácido e outro H do álcool. Essas três situações não foram observadas, ou seja, as massas e respectiva fragmentação apresentava o peso molecular das lactonas em questão; os espectros de infra-vermelho não apresentavam bandas características de OH e os espectros de RMN não apresentavam sinais de hidrogênios dos possíveis hidroxíácidos. Estes fatos ocorreram nas análises das moléculas **7**, **8**, **11**, **13**, **14**, **15**, **16**, **17**, **18**, **19** e **20**, confirmando a presença das lactonas.

Quanto a configuração das ligações duplas das moléculas **11**, **14**, **18** e **19**, foi estabelecido como sendo o produto (*E*) ou (*Z*) através das constantes de acoplamento apresentadas pela análise de RMN. A redução de triplas ligações, utilizando o catalisador de Lindlar é uma metodologia bastante concisa. Este protocolo tende a gerar um sistema (*Z*). As moléculas **14**, **18** e **19** foram sintetizadas usando este protocolo, sendo que as análises de RMN de **14** e **19** apresentaram um sinal, na região de H vinílicos, de multiplicidade duplo duplo tripleto, com constantes de acoplamento na ordem de 11, 7,5 e 1 Hz. Estas constantes revelam a configuração (*Z*) dos compostos, mesmo não sendo possível a atribuição de uma multiplicidade ao outro H vinílico presente no sistema. A figura 3.3.1 mostra os acoplamentos de **14** e **19** com os valores de *J*, comprovando a configuração (*Z*).

Figura 3.3.1 – Comprovação da configuração (Z) de **14** e **19**.

A fim de exemplificar essa situação, a região de H vinílicos da análise de RMN da molécula **14** é mostrada na figura 3.3.2. A análise foi realizada utilizando CD_3OD como solvente, em um aparelho operando na frequência de 500 MHz. Ratificando, a multiplicidade de H_a , juntamente com suas constantes de acoplamento comprova a configuração (Z).

Figura 3.3.2 – Ampliação da região dos H vinílicos de **14**.

A sobreposição dos sinais correspondente a H_a , do composto **14**, é explicada quando observarmos o diagrama de Pascal que gera o duplo triplo dubleto (figura 3.3.3). Ao H_b , não foi possível atribuir uma multiplicidade.

Figura 3.3.3 – Diagrama de Pascal para o H_a do composto **14**.

No caso da molécula **18**, não foi possível atribuir uma multiplicidade aos dois sinais vinílicos presentes, porém admitimos a configuração (*Z*), uma vez que, para sintetizá-la utilizamos rigorosamente o mesmo protocolo reacional utilizado para a obtenção dos compostos **14** e **19**.

No caso do composto **11**, a configuração (*E*) foi observada através da multiplicidade dos H vinílicos com as suas respectivas constantes de acoplamento. A figura 3.3.4 demonstra os acoplamentos desses H em questão com os valores de J obtidos, comprovando a configuração (*E*).

Figura 3.3.4 – Comprovação da configuração (*E*) de **11**.

Desse modo, os H vinílicos do composto **11** se apresentam com uma multiplicidade de um dubleto e um duplo dubleto. Esta região do espectro de RMN está expandida na figura 3.3.5, onde fica claro se tratar de uma ligação dupla de configuração (*E*). A análise foi realizada utilizando CD_3OD como solvente, em um aparelho operando na frequência de 500 MHz.

Figura 3.3.5 – Ampliação da região dos H vinílicos de **11**.

Os diagramas de Pascal para o duplo dubleto (H_a), e o dubleto (H_b) do composto **11**, estão apresentados nas figuras 3.3.6 e 3.3.7, respectivamente.

Figura 3.3.6 – Diagrama de Pascal para o H_a do composto **11**.

Figura 3.3.7 – Diagrama de Pascal para o H_b do composto **11**.

Convém lembrar que os demais dados analíticos bem como os espectros de RMN em janelas espectrais mais amplas serão apresentados em capítulos posteriores. Capítulo 6 – Dados Analíticos; Capítulo 7 – Espectros Seleccionados.

4. Considerações Finais

Considerando-se os objetivos propostos para o presente trabalho e analisando-se os resultados obtidos, é possível fazer algumas considerações pertinentes frente ao estudo realizado.

Desenvolveu-se uma metodologia eficiente para a resolução cinética enzimática de hidroxiésteres. Foram utilizadas condições brandas e o tempo reacional também chama a atenção. Relatos na literatura de resoluções similares apresentam tempos superiores a 12 horas de reação, podendo chegar a mais de 140 horas. Neste trabalho, encontramos como melhor tempo 2 horas para os dois primeiros casos e apenas 1 hora para o terceiro caso. Conforme relatado, se desprezarmos o rendimento da resolução cinética, podemos obter alguns dos hidroxiésteres em questão com uma pureza óptica de praticamente 100%. Algumas variáveis como sistema de solvatação, quantidade de doador de acila e temperatura demonstraram uma grande influência sobre a reação. A enzima que se demonstrou mais eficaz foi a CAL-B, ainda que outros biocatalisadores também tenham promovido a reação com o hidroxiéster.

A obtenção dos hidroxiésteres foi realizada através de metodologias bem consolidadas, empregando reações e reagentes relativamente simples. Demonstrou-se a versatilidade desta classe de compostos utilizando-os como blocos de construção ou intermediários-chave para a síntese de moléculas bioativas. As reações que originaram as lactonas bioativas foram realizadas utilizando-se os racematos dos hidroxiésteres, porém, nenhuma das etapas reacionais envolvia uma nova fonte de quiralidade ou necessitaria do centro estereogênico resolvido. Assim, a síntese racêmica da buibuilactona, da japonilura, da 4-hexanolida e de intermediários sintéticos da goniotalamina e da argenilactona comprova que os hidroxiésteres estudados neste trabalho são eficazes para este propósito.

5. Parte Experimental

5.1 – MATERIAIS E MÉTODOS

5.1.1 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.

Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C foram obtidos em espectrômetros Bruker AC, Bruker DPX e Bruker DRX, que operam nas frequências de 200 MHz, 300 MHz e 500 MHz, respectivamente, (Central Analítica – IQUSP). Os deslocamentos químicos estão relacionados em partes por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano ou metanol- d_4 (TMS ou CD_3OD , utilizados como padrão interno para espectros de RMN ^1H) e CDCl_3 ou CD_3OD (para os espectros de RMN ^{13}C), colocando entre parênteses a multiplicidade (s = singlete, sl = singlete largo, d = dubleto, t = tripleto, tt = triplo tripleto, qui = quinteto, m = multiplete, dd = duplo dubleto, dt = duplo tripleto, dtd = duplo triplo dubleto), a constante de acoplamento (J) expressa em Hertz (Hz) e o número de hidrogênios deduzidos da integral relativa.

5.1.2 – Espectrometria de Massas.

Os espectros de massa de baixa resolução foram obtidos através de um aparelho Shimadzu CGMS-QP5050A equipado com coluna capilar DB-5 (JW Scientific 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), utilizando hélio como gás de arraste. Os espectros de massa de alta resolução foram obtidos através de um equipamento LC-MS Bruker Daltonics MicroTOF (Central Analítica – IQUSP).

5.1.3 – Espectrofotometria no Infra-Vermelho.

Os espectros de infra-vermelho foram obtidos através de um equipamento FTIR Bomem MB100 com faixa de operação entre 350 e 4000 cm^{-1} , utilizando um filme para a análise (Central Analítica – IQUSP).

5.1.4 – Cromatografia Gasosa.

Para as análises de cromatografia gasosa foram utilizados dois cromatógrafos; um Shimadzu CG-2010 e um Shimadzu CG-2014, equipados com coluna de fase estacionária aquiral ou quiral (Chirasil-DEX CB β -ciclodextrina, 25 m x 0,25 mm x 0,25 μ m). Utilizou-se hidrogênio como gás de arraste em uma determinada pressão

5.1.5 – Polarimetria.

Os valores de rotação óptica dos compostos foram medidos em um polarímetro Perkin Elmer 343, utilizando uma cubeta de 100 mm.

5.1.6 – Agitação Orbital.

As resoluções cinéticas foram desenvolvidas em um agitador orbital Tecnal TE-424.

5.1.7 – Rota-evaporadores.

Para remoção dos solventes orgânicos foram utilizados três rota-evaporadores Büchi, sendo um de modelo R-114 e dois de modelo R-205.

5.1.8 – Balanças.

Foram utilizadas uma balança de alta precisão Mettler Toledo AG204 e uma balança Marte AS2000C.

5.1.9 – Forno de Destilação Horizontal.

Utilizou-se um forno de vidro marca Büchi modelo B-580.

5.1.10 – Bombas de Vácuo.

Foram utilizadas duas bombas de vácuo Tecnal TE-058 e duas bombas de vácuo Edwards modelo RV3.

5.1.11 – Solventes e Reagentes.

Os solventes foram purificados e/ou secos antes de serem utilizados, conforme técnicas usuais.⁵² Alguns dos reagentes restantes foram obtidos de fontes comerciais e utilizados sem prévia purificação.

O THF foi refluxado sob sódio metálico, utilizando como indicador a benzofenona, e destilado imediatamente antes do uso. O hexano utilizado nas resoluções foi destilado sob sódio metálico; o clorofórmio foi destilado sob pentóxido de fósforo e armazenado sob peneira molecular; o metilterc-butiléter foi destilado sob hidreto de alumínio e lítio; a trietilamina, a piridina e a diisopropilamina foram destiladas e armazenadas sob hidróxido de potássio e o acetato de vinila foi destilado antes do uso.

O acetileno utilizado foi submetido a lavagem por um primeiro frasco com ácido sulfúrico e um segundo carregado com hidróxido de potássio. No caso da amônia, utilizou-se apenas o frasco carregado com hidróxido de potássio. O anidrido acético foi destilado a pressão reduzida; o ácido *p*-toluenosulfônico foi purificado através de fundição em alto vácuo; o iodeto de cobre foi seco sob aquecimento em alto vácuo. A quinolina foi lentamente destilada sob pressão reduzida.

A concentração dos reagentes alquil-lítio e reagentes de Grignard foram determinadas através de titulação dos mesmos com isopropanol, utilizando 1,10-fenantrolina como indicador.

⁵² Perrin, D. D.; Armarego, W. L. *Purification of Laboratory Chemicals*, 4th Ed. Pergamon Press, New York, 1997.

As placas de cromatografia em camada delgada foram obtidas de fontes comerciais – Merck, Folha de Alumínio, Sílica gel 60 F₂₅₄ – e utilizou-se, como método de revelação, cuba de iodo e solução ácida de *p*-anisaldeído.

Para os produtos purificados em coluna, o material usado foi uma coluna de vidro, sílica gel (Fluka, Sílica gel 60, 220-440 mesh) e, como eluente, um solvente ou uma mistura apropriada de solventes.

5.2 – PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

5.2.1 – Procedimento geral para obtenção dos oxoésteres **4**, **5** e **6**.

Em um balão de 500 mL, provido de agitação magnética adicionou-se 200 mL de metanol, 85 mL de trietilamina e a lactona correspondente (γ -butirolactona, δ -valerolactona ou ϵ -caprolactona – 100 mmol). A mistura foi mantida sob agitação durante 8 horas à temperatura ambiente. Removeu-se o excedente de metanol e trietilamina por rota-evaporação e secou-se o produto em bomba de vácuo. Solubilizou-se o bruto obtido em 300 mL de diclorometano e adicionou-se, acetato de sódio (2,6 g; 32 mmol). Posteriormente, adicionou-se o PCC (32,3 g 150 mmol) e manteve-se a reação por 2 horas. A mistura final foi filtrada sob vácuo em leito de sílica. A solução orgânica obtida foi seca com MgSO₄, filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O resíduo foi purificado por destilação horizontal à pressão reduzida. Rendimentos: **4**, 8,8 g, 76 %; **5**, 10,4 g, 80 %; **6**, 11,9 g, 83 %. Líquidos incolores.

5.2.2 – Procedimento geral para obtenção dos hidroxíésteres **1**, **2** e **3**.

Método A: Em um balão de três bocas, de 500 mL, previamente flambado, sob agitação magnética e atmosfera de argônio, adicionou-se 160 mL de THF, resfriou-se a 0 °C e o meio foi saturado com acetileno gasoso durante 1 hora. Resfriou-se a solução à -40 °C e adicionou-se lentamente brometo de etilmagnésio (1,36 M, solução em THF; 30,8 mL, 42 mmol). A temperatura foi elevada a 0 °C e o sistema foi novamente saturado com acetileno durante 10 minutos. Arrefeceu-se o sistema à -78 °C e adicionou-se rapidamente o oxoéster

correspondente (30 mmol) e manteve-se a agitação até atingir a t.a. Método B: Em um balão de 2 bocas, de 500 mL, previamente flambado, sob agitação magnética e atmosfera de argônio, adicionou-se 160 mL de THF e 30 mmol do oxoéster correspondente. Resfriou-se o sistema a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, e adicionou-se gota a gota uma solução de cloreto de etinil-magnésio (comercial), até a verificação do consumo total do material de partida por CCD. Em ambos métodos, procedeu-se a extração com acetato de etila (2 x 50 mL) e solução aquosa saturada de NH_4Cl (50 mL), lavando-se a fase orgânica resultante com solução saturada aquosa de NaCl (40 mL). Secou-se a fase orgânica com MgSO_4 , e concentrou-se a mistura. O resíduo foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de 30 % acetato de etila em hexano Rendimentos: **1**, 4,1 g, 82 %; **2**, 3,5 g, 75 %; **3**, 2,5 g, 60 %. Líquidos incolores.

5.2.3 – Procedimento geral para obtenção dos compostos (*rac*)-**1b**, (*rac*)-**2b** e (*rac*)-**3b**.

Em uma balão de 10 mL, adicionou-se 1 mmol do correspondente hidroxiéster, 2 mL de anidrido acético e 4 mL de piridina. Manteve-se a reação por 30 minutos e após procedeu-se a extração com acetato de etila (20 mL) e água (20 mL). Lavou-se a fase orgânica com solução saturada de CuSO_4 (2 x 10 mL) e secou-se a mesma com MgSO_4 . Após a filtração, evaporou-se o solvente em rota-evaporador e purificou-se o bruto reacional por coluna cromatográfica em sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de 20 % acetato de etila em hexano. Rendimentos quantitativos: (*rac*)-**1b**, 0,211 g; (*rac*)-**2b**, 0,198 g; (*rac*)-**3b**, 0,184 g. Óleos amarelos.

5.2.4 – Procedimento geral para obtenção das lactonas **7** e **15**.

Em um erlenmeyer de 100 mL adicionou-se 10 mmol do correspondente hidroxiéster e 30 mL de solução de NaOH (1M). Manteve-se a agitação por 30 minutos e em seguida adicionou-se solução de H_2SO_4 (2M) até a verificação de um pH entre 2 e 3 (aproximadamente 17 mL de solução ácida). Transferiu-se o conteúdo para um funil de extração contendo acetato de etila (50 mL). Separou-se

as fases e secou-se a fase orgânica com MgSO_4 . Após a filtração, evaporou-se o solvente em rota-evaporador e purificou-se o bruto reacional por coluna cromatográfica em sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de 50 % acetato de etila em hexano. Rendimentos: **7**, 1,17 g, 95 %; **15**, 1.01 g, 92 %. Óleos incolores.

5.2.5 - Procedimento para obtenção da lactona **8**.

Em um balão de duas bocas, de 50 mL, sob atmosfera de argônio, seco, adicionou-se o $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (0,1 mmol, 70 mg), o CuI (0,1 mmol, 19 mg), 10 mL de THF, o iodobenzeno (1 mmol, 204 mg), o hidroxiéster **2** (1,5 mmol, 234 mg) e, por fim, a TEA (14,3 mmol, 2 mL). Manteve-se a agitação, a t.a. durante 8 horas. Após este período, evaporou-se o solvente da reação em rota-evaporador, e adicionou-se, no mesmo balão reacional, 10 mL de solução de NaOH (1M). Manteve-se a agitação por 30 minutos e em seguida adicionou-se solução de H_2SO_4 (2M) até a verificação de um pH entre 2 e 3 (aprox. 7 mL de solução ácida). Transferiu-se o conteúdo para um funil de extração contendo acetato de etila (30 mL). Separou-se as fases e secou-se a fase orgânica com MgSO_4 . Após a filtração, evaporou-se o solvente em rota-evaporador e purificou-se o bruto reacional por coluna cromatográfica em sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de 50 % acetato de etila em hexano. Rendimento: 150 mg, 75 %; Óleo amarelado.

5.2.6 - Procedimento para obtenção do hidroxiéster **9**.

Em um balão de duas bocas, de 25 mL, sob atmosfera de argônio, seco, adicionou-se o $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (0,1 mmol, 70 mg), o CuI (0,1 mmol, 19 mg), 10 mL de THF, o iodobenzeno (1 mmol, 204mg), o hidroxiéster **1** (3 mmol, 510 mg) e, por fim, a TEA (14,3 mmol, 2 mL). Manteve-se a agitação, a t.a. durante 2 horas e em seguida procedeu-se a extração do produto com acetato de etila (20 mL) e água (20 mL). Secou-se a fase orgânica com MgSO_4 e, após a filtração, evaporou-se o solvente em rota-evaporador e purificou-se o bruto reacional por coluna

cromatográfica em sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de 30 % acetato de etila em hexano. Rendimento: 221 mg, 90 %; Óleo amarelo.

5.2.7 - Procedimento para obtenção da lactona **11**.

Em um balão de 10 mL, sob atmosfera de argônio adicionou-se a lactona **12** (1 mmol, 202 mg), DCM seco (5 mL) e $\text{Pd}(\text{MeCN})_2\text{Cl}_2$ (0,2 mmol, 45 mg). Manteve-se a agitação por 24 horas e filtrou-se o conteúdo da reação em funil de placa sinterizada carregado com sílica gel, lavando-se com acetato de etila (2 x 5 mL). Removeu-se o solvente por rota-evaporação e secou-se o produto em bomba de alto vácuo. Rendimento: quantitativo, 202 mg. Óleo amarelo.

5.2.8 – Procedimento para obtenção da lactona **12**.

Em um balão de 10 mL adicionou-se a lactona **8** (1 mmol, 200 mg), acetato de etila (5 mL), o catalisador de Lindlar – $\text{Pd}/\text{CaCO}_3/\text{Pb}$, (175 mg) – e a quinolina (0,85 mmol, 0,1 mL). Manteve-se a reação por 6 horas sob atmosfera de H_2 , e em seguida transferiu-se o conteúdo do balão para um funil de extração contendo acetato de etila (10 mL). Lavou-se a fase orgânica com solução de HCl 10 % (2 x 10 mL), secou-se com MgSO_4 e removeu-se o solvente por rota-evaporação. Purificou-se o resíduo por coluna cromatográfica em sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de 50 % acetato de etila em hexano. Rendimento: quantitativo, 202 mg. Óleo amarelo.

5.2.9 – Procedimento para obtenção da lactona **13**.

Em uma balão A, de 25 mL, sob atmosfera de argônio, previamente flambado, adicionou-se o THF (5 mL), diisopropilamina (2,2 mmol, 0,31 mL). Resfriou-se o sistema a $-78\text{ }^\circ\text{C}$ e adicionou-se gota a gota *n*-BuLi (2,1 mmol, 1,40 M, 1,5 mL). Manteve-se o sistema sob agitação, durante 30 minutos a $0\text{ }^\circ\text{C}$. Em outro balão B, de 100 mL, de duas bocas, sob atmosfera de argônio, previamente flambado, adicionou-se o THF (10 mL), a lactona **7** (1 mmol, 124 mg), o HMPA (6 mmol, 1,05 mL) e resfriou-se a temperatura a $-78\text{ }^\circ\text{C}$. Canulou-se o conteúdo do balão A para o balão B e aguardou-se 1 hora. Em seguida, adicionou-se

lentamente, gota a gota uma solução de 1-iodopentano (1 mmol, 198 mg) em THF (10 mL). A temperatura foi elevando-se gradativamente até t.a. e, manteve-se a reação por 24 horas. Após, procedeu-se a extração com acetato de etila (30 mL) e água (50 mL); secou-se a fase orgânica com MgSO_4 e, após a filtração, evaporou-se o solvente em rota-evaporador e purificou-se o bruto reacional por coluna cromatográfica em sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de 50 % acetato de etila em hexano. Rendimento: 101 mg, 52 %; Óleo amarelo.

5.2.10 – Procedimento para obtenção da lactona **14**.

Em um balão de 10 mL adicionou-se a lactona **13** (1 mmol, 194 mg), acetato de etila (5 mL), o catalisador de Lindlar – $\text{Pd}/\text{CaCO}_3/\text{Pb}$, (175 mg) – e a quinolina (0,1 mL). Manteve-se a reação por 6 horas sob atmosfera de H_2 , e em seguida transferiu-se o conteúdo do balão para um funil de extração contendo acetato de etila (10 mL). Lavou-se a fase orgânica com solução de HCl 10 % (2 x 10 mL), secou-se com MgSO_4 e removeu-se o solvente por rota-evaporação. Purificou-se o produto por coluna cromatográfica em sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de 50 % acetato de etila em hexano. Rendimento: quantitativo, 195 mg. Óleo amarelo.

5.2.11 – Procedimento para obtenção das lactonas **16** e **17**.

Em uma balão A, de 25 mL, sob atmosfera de argônio, previamente flambado, adicionou-se THF (5 mL), diisopropilamina (2,2 mmol, 0,31 mL). Resfriou-se o sistema a $-78\text{ }^\circ\text{C}$ e adicionou-se gota a gota $n\text{-BuLi}$ (2,1 mmol, 1,40 M, 1,5 mL). Manteve-se o sistema sob agitação, durante 30 minutos a $0\text{ }^\circ\text{C}$. Em outro balão B, de 100 mL, de duas bocas, sob atmosfera de argônio, previamente flambado, adicionou-se THF (10 mL), a lactona 15 (1 mmol, 110 mg), o HMPA (6 mmol, 1,05 mL) e resfriou-se a temperatura a $-78\text{ }^\circ\text{C}$. Canulou-se o conteúdo do balão A para o balão B e aguardou-se 1 hora. Em seguida, adicionou-se lentamente, gota a gota uma solução do devido brometo alquílico (1 mmol) em THF (10 mL). A temperatura foi elevando-se gradativamente até t.a. e, manteve-se a reação por 24 horas. Após, procedeu-se a extração com acetato de etila (30 mL)

e água (50 mL); secou-se a fase orgânica com MgSO_4 e, após a filtração, evaporou-se o solvente em rota-evaporador e purificou-se o bruto reacional por coluna cromatográfica em sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de 50 % acetato de etila em hexano. Rendimentos: **16**, 122 mg, 63 %; **17**, 131 mg, 59 %. Óleos amarelados.

5.2.12 – Procedimento para obtenção das lactonas **18** e **19**.

Em um balão de 10 mL adicionou-se a correspondente lactona **16** ou **17** (1 mmol), acetato de etila (5 mL), o catalisador de Lindlar – $\text{Pd}/\text{CaCO}_3/\text{Pb}$, (175 mg) – e a quinolina (0,1 mL). Manteve-se a reação por 6 horas sob atmosfera de H_2 , e em seguida transferiu-se o conteúdo do balão para um funil de extração contendo acetato de etila (10 mL). Lavou-se a fase orgânica com solução de HCl 10 % (2 x 10 mL), secou-se com MgSO_4 e removeu-se o solvente por rota-evaporação. Purificou-se o resíduo por coluna cromatográfica em sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de 50 % acetato de etila em hexano. Rendimentos: **18**, 190 mg, 97 %; **19**, 213 mg, 95 %. Óleos amarelos.

5.2.13 – Procedimento para obtenção da 4-hexanolida **20**.

Em um balão de 25 mL adicionou-se a lactona **15** (1 mmol, 110 mg), 5 mL de acetato de etila e o catalisador de Pd/C (50 mg, teor de Pd igual a 9%). Manteve-se a reação sob atmosfera de H_2 durante 24 horas a t.a.. Após, filtrou-se o conteúdo em funil de placa sinterizada contendo sílica gel, lavando-se com acetato de etila (2 x 5 mL). Evaporou-se o solvente em rota-evaporador e secou-se o produto em bomba de alto vácuo. Rendimento quantitativo, 114 mg. Líquido amarelado.

5.2.14 – Procedimento para preparação de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$.

Em um béquer de 100 mL adicionou-se PdCl_2 (1,7 mmol, 0,301 g) e suspendeu-se em 2,5 mL de água destilada. Adicionou-se NaCl (3 mmol, 0,175 g) e aqueceu-se a mistura, sob agitação, até quase a secura. Adicionou-se mais 2,5 mL de água destilada e aqueceu-se, sob agitação, até a secura. Ao sólido obtido,

adicionou-se EtOH (50 mL) e aqueceu-se até 60-65 °C, e em seguida adicionou-se PPh_3 (10,2 mmol, 2,5 g). Manteve-se a agitação por 5 minutos e filtrou-se o sólido resultante sob vácuo, lavando-o com éter etílico (2 x 5 mL). Posteriormente, secou-se o sólido em bomba de alto vácuo. Rendimento: 1,15 g, 97 %. Sólido amarelo.

5.2.15 – Procedimento para preparação de $\text{Pd}(\text{MeCN})_2\text{Cl}_2$.

Em um balão de 100 mL, de duas bocas, adicionou-se o PdCl_2 (2 mmol, 0,355 g) e MeCN (50 mL). Manteve-se a reação sob refluxo e agitação por 24 horas. Após este período, filtrou-se o sólido resultante sob vácuo, lavando-o com éter de petróleo (2 x 5 mL). Secou-se o sólido resultante em bomba de alto vácuo. Rendimento: 0,477 g, 92 %. Sólido alaranjado.

5.2.16 – Procedimento geral para as resoluções cinéticas enzimáticas.

5.2.16.1 – Resoluções em pequena escala.

Em um erlenmeyer de 10 mL adicionou-se o correspondente hidroxíéster (0,1 mmol), 5 mL da mistura adequada de solvente, a enzima CAL-B (15 mg) e por fim o acetato de vinila (0,4 mmol, 37 μL). O meio reacional foi mantido sob agitação em agitador orbital, a 170 rpm e 30 °C. Foram removidas alíquotas da reação em determinados períodos de tempo, as quais foram analisadas por cromatografia gasosa de fase estacionária quiral. No caso do hidroxíéster **1**, para injeção no CG, procedeu-se a separação dos produtos **1a** e **1b** por CCD, eluindo-se com uma mistura 40 % de acetato de etila em hexano. Antes da análise, derivatizou-se a forma alcoólica **1a** no respectivo acetato empregando-se piridina e anidrido acético. Não calculou-se os rendimentos; procedimento para determinação dos excessos enantioméricos.

5.2.16.2 – Resoluções em grande escala.

Em um erlenmeyer de 250 mL adicionou-se o correspondente hidroxiéster (2 mmol), 100 mL da mistura adequada de solvente, a enzima CAL-B (300 mg) e por fim o acetato de vinila (8 mmol, 0,74 mL). O meio reacional foi mantido sob agitação em agitador orbital, a 170 rpm e 30 °C. Após o tempo adequado (2 horas para **1** e **2**, e 1 hora para **3**) filtrou-se a reação, evaporou-se o solvente e separou-se as formas alcoólicas e acetiladas por coluna cromatográfica, utilizando uma mistura 40 % de acetato de etila em hexano. Secou-se os produtos em bomba de alto vácuo. Rendimentos: **1a** (42 %, 143 mg), **1b** (41 %, 174 mg), **2a** (41 %, 128 mg), **2b** (40 %, 158 mg), **3a** (41 %, 116 mg), **3b** (39 %, 143 mg).

6. Datos Analíticos

6.1 – 6-hidróxi-oct-7-inoato de metila (1):

Fórmula molecular: $C_9H_{14}O_3$. CAS: 913815-16-4. IV (filme, cm^{-1}): 3443, 3291, 2112, 1734. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 4,38 (dt, $J = 6,5$ e $2,0$ Hz, 1H); 3,67 (s, 3H); 2,47 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H); 3,43 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 2,13 (sl, 1H); 1,70 (m, 4H); 1,50 (m, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 174,0; 84,7; 72,9; 61,9; 51,5; 37,1; 33,8; 24,5; 24,4. CG-EM m/z (intensidade relativa %): 171 ($M^+ + 1$, 0,2), 153 (0,2), 139 (0,2), 115 (37), 111 (3), 101 (3), 97 (13), 87 (94), 83 (26), 73 (35), 70 (13), 59 (43), 55 (100).

6.2 – 5-hidróxi-hept-6-inoato de metila (2):

Fórmula molecular: $C_8H_{12}O_3$. CAS: 120657-22-9. IV (filme, cm^{-1}): 3442, 3289, 2112, 1733. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 4,39 (dt, $J = 6,0$ e $2,1$ Hz, 1H); 3,68 (s, 3H); 2,52 (sl, 1H); 2,47 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H); 2,38 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H); 1,79 (m, 4H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 173,9; 84,5; 72,9; 61,6; 51,5; 36,7; 33,4; 20,3. CG-EM m/z (intensidade relativa %): 157 ($M^+ + 1$, 0,2), 125 (1), 101 (66), 97 (10), 83 (15), 74 (100), 59 (84), 55 (82), 43 (58).

6.3 – 4-hidróxi-hex-5-inoato de metila (3):

Fórmula molecular: $C_7H_{10}O_3$. CAS: 118800-10-5. IV (filme, cm^{-1}): 3446, 3289, 2116, 1731. RMN 1H (200 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 4,48 (dt, $J = 6,2$ e $2,0$ Hz, 1H); 3,69 (s, 3H); 2,95 (sl, 1H); 2,57 (m, 2H); 2,50 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H); 2,06 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H). RMN ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 174,0; 83,9; 73,2; 61,0; 51,7; 32,1; 29,5. CG-EM m/z (intensidade relativa %): 142 (M^+ , 0,6), 141 (2), 111 (10), 98 (4), 83 (9), 65 (7), 59 (6), 55 (7), 53 (7), 43 (100), 39 (11).

6.4 – 4-oxobutanoato de metila (4):

Fórmula molecular: $C_5H_8O_3$. CAS: 13865-19-5. IV (filme, cm^{-1}): 2957, 1738. RMN 1H (200 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 9,81 (s, 1H); 3,69 (s, 3H); 2,81 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H); 2,63 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H). RMN ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 199,9; 172,5; 51,7; 38,2; 26,1. CG-EM m/z (intensidade relativa %): 117 (M^++1 , 1), 115 (3), 101 (100), 87 (5), 73 (22), 55 (62), 45 (61).

6.5 – 5-oxopentanoato de metila (5):

Fórmula molecular: $C_6H_{10}O_3$. CAS: 6026-86-4. IV (filme, cm^{-1}): 2955, 1736. RMN 1H (200 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 9,77 (s, 1H); 3,67 (s, 3H); 2,54 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H); 2,38 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H); 1,95 (qui, $J = 7,2$ Hz, 2H). RMN ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ

(ppm) 201,3; 173,1; 51,3; 42,6; 32,6; 17,0. CG-EM m/z (intensidade relativa %): 131 ($M^+ + 1$, 2), 99 (46), 74 (100), 59 (31), 55 (30), 43 (60).

6.6 – 6-oxohexanoato de metila (**6**):

Fórmula molecular: $C_7H_{12}O_3$. CAS: 6654-36-0. IV (filme, cm^{-1}): 2952, 1738. RMN 1H (200 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 9,77 (s, 1H); 3,67 (s, 3H); 2,47 (m, 2H); 2,35 (m, 2H); 1,73-1,62 (m, 4H). RMN ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 201,9; 173,5; 51,4; 43,3; 33,5; 24,2; 21,3. CG-EM m/z (intensidade relativa %): 145 ($M^+ + 1$, 1), 116 (15), 113 (41), 101 (39), 87 (97), 85 (11), 74 (55), 59 (100), 55 (72), 43 (62).

6.7 – 6-acetóxi-7-inoato de metila ((*rac*)-**1b**):

Fórmula molecular: $C_{11}H_{16}O_4$. IV (filme, cm^{-1}): 3285, 2122, 1740. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 5,34 (dt, $J = 6,3$ e $2,1$ Hz, 1H); 3,67 (s, 3H); 2,46 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H); 2,33 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 2,08 (s, 3H); 1,78 (m, 2H); 1,67 (qui, $J = 7,5$ Hz, 2H); 1,50 (m, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 173,7; 169,7; 80,9; 73,5; 63,4; 51,4; 34,1; 33,7; 24,3; 24,3; 20,8. EMAR-ESI m/z calculada para $[C_{11}H_{16}O_4Na^+]$, 235,0946; encontrada, 235,0938.

6.8 – 5-acetóxihept-6-inoato de metila ((rac)-2b):

Fórmula molecular: $C_{10}H_{14}O_4$. IV (filme, cm^{-1}): 3283, 2122, 1740. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 5,37 (m, 1H); 3,68 (s, 3H); 2,47 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H); 2,08 (s, 3H); 1,82 (m, 4H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 173,3; 169,7; 80,7; 73,7; 63,1; 51,5; 33,7; 33,2; 20,8; 20,2. EMAR-ESI m/z calculada para $[C_{10}H_{14}O_4Na^+]$, 221,0790; encontrada, 221,0778.

6.9 – 4-acetóxihex-5-inoato de metila ((rac)-3b):

Fórmula molecular: $C_9H_{12}O_4$. IV (filme, cm^{-1}): 3281, 2122, 1741. RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 5,42 (dt, $J = 6,0$ e $2,0$ Hz, 1H); 3,68 (s, 3H); 2,51 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 2,48 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H); 2,13 (m, 2H); 2,07 (s, 3H). RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 172,7; 169,5; 80,1; 74,1; 62,5; 51,7; 29,5; 29,3; 20,7. EMAR-ESI m/z calculada para $[C_9H_{12}O_4Na^+]$, 207,0633; encontrada, 207,0629.

6.10 – 6-etinil-tetrahidropiran-2-ona (7):

Fórmula molecular: $C_7H_8O_2$. IV (filme, cm^{-1}): 3288, 2116, 1708. RMN 1H (300 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 4,31 (dt, $J = 6,3$ e $2,1$ Hz, 1H); 2,78 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H); 2,33 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,40 (m, 4H). RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 177,2; 85,9; 73,6; 62,2; 38,1; 34,5; 21,8. EMAR-ESI m/z calculada para $[C_7H_8O_2H^+]$, 125,0603; encontrada, 125,0609.

6.11 – 6-(feniletinil)-tetrahidropiran-2-ona (8):

Fórmula molecular: $C_{13}H_{12}O_2$. CAS: 473611-27-7. IV (filme, cm^{-1}): 2955, 1710, 1490, 758, 692. RMN 1H (300 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 7,41-7,27 (m, 5H); 4,53 (m, 1H); 2,38 (m, 2H); 1,85-1,75 (m, 4H). RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 177,3; 132,5; 129,4; 129,3; 124,3; 91,3; 85,2; 62,9; 38,3; 34,5; 22,0. CG-EM m/z (intensidade relativa %): 200 (M^+ , 32), 172 (19), 156 (3), 144 (17), 130 (12), 128 (100), 115 (20), 101 (5), 91 (7), 77 (16), 70 (35), 55 (10), 42 (86).

6.12 – 6-hidróxi-8-feniloct-7-inoato de metila (9):

Fórmula molecular: $C_{15}H_{18}O_3$. IV (filme, cm^{-1}): 3447, 2948, 2864, 2228, 1736, 1490, 1439, 759, 693. RMN 1H (200 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 7,44-7,27 (m, 5H); 4,60 (t, $J = 6,5$ Hz, 1H); 3,66 (s, 3H); 2,35 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 2,13 (s, 1H); 1,87-1,50 (m, 6H). RMN ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 174,0; 131,6; 128,3; 128,2; 122,5; 89,9; 84,8; 62,5; 51,4; 37,3; 33,9; 24,7; 24,5. EMAR-ESI m/z calculada para $[C_{15}H_{18}O_3Na^+]$, 269,1154; encontrada, 269,1151.

6.13 – (E)-6-estiril-tetrahidropiran-2-ona (11):

Fórmula molecular: $C_{13}H_{14}O_2$. CAS: 75649-59-1. IV (filme, cm^{-1}): 3027, 2193, 2058, 1735, 1494, 1222, 1120, 1089, 969, 750, 695. RMN 1H (500 MHz, CD_3OD):

δ (ppm) 7,38 (m, 2H); 7,28 (m, 2H); 7,20 (m, 1H); 6,56 (d, $J = 16$ Hz, 1H); 6,20 (dd, $J = 16$ e 7 Hz, 1H); 4,21 (m, 1H); 2,37 (t, $J = 7$ Hz, 2H); 1,80-1,56 (m, 4H). RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 175,8; 138,4; 133,5; 131,2; 129,5; 128,5; 127,4; 73,2; 37,6; 34,6; 22,1. CG-EM m/z (intensidade relativa %): 202 (M^+ , 2), 174 (2), 150 (6), 146 (5), 129 (17), 115 (23), 103 (11), 91 (21), 83 (30), 77 (30), 42 (100).

6.14 – 6-(hept-1-inil)- tetrahidropiran-2-ona (13):

Fórmula molecular: $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_2$. IV (filme, cm^{-1}): 2933, 2233, 1711. RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 4,29 (tt, $J = 6,6$ e 1,8 Hz, 1H); 2,32 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H); 2,20 (dt, $J = 6,9$ e 2,1 Hz, 2H); 1,80-1,60 (m, 4H); 1,50 (m, 2H); 1,38 (m, 4H); 0,91 (t, $J = 6,9$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 177,0; 85,3; 82,0; 62,4; 38,3; 34,3; 31,8; 29,3; 23,0; 21,7; 19,0; 14,0. EMAR-ESI m/z calculada para $[\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{Na}^+]$, 217,1204; encontrada, 217,1201

6.15 – (Z)-6-(hept-1-enil)- tetrahidropiran-2-ona (14):

Fórmula molecular: $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_2$. CAS: 18679-17-9. IV (filme, cm^{-1}): 3008, 2956, 2928, 2858, 1713, 1460, 1243, 1040, 754. RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 5,46 (dtd, $J = 11$, 7,5 e 1 Hz, 1H); 5,33 (m, 1H); 4,39 (dtd, $J = 9$, 6,5 e 1 Hz, 1H); 2,30 (t, $J = 7$ Hz, 2H); 2,10 (m, 2H); 1,70-1,50 (m, 2H); 1,45-1,25 (m, 8H); 0,91 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 176,9; 133,2; 132,0; 67,4; 37,6; 34,4; 32,2; 30,1; 28,2; 23,1; 21,7; 13,9. CG-EM m/z (intensidade relativa %):

196 (M^+ , 1), 179 (1), 160 (7), 147 (8), 127(13), 125 (31), 112 (13), 109 (28), 97 (26), 77 (70), 67 (37), 57 (100), 55 (56), 41 (64).

6.16 – 5-etinil-dihidrofuran-2(3*H*)-ona (15):

Fórmula molecular: $C_6H_6O_2$. IV (filme, cm^{-1}): 3290, 2116, 1714. RMN 1H (300 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 4,37 (dt, $J = 6,6$ e $2,1$ Hz, 1H); 2,81 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H); 2,46 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 2,00-1,90 (m, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 176,9; 85,6; 73,9; 61,9; 34,0; 30,6. EMAR-ESI m/z calculada para $[C_6H_6O_2H^+]$, 111,0446; encontrada, 111,0452.

6.17 – 5-(oct-1-inil)-dihidrofuran-2(3*H*)-ona (16):

Fórmula molecular: $C_{12}H_{18}O_2$. CAS: 862852-70-8. IV (filme, cm^{-1}): 2932, 2232, 1712, 1416, 1066. RMN 1H (500 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 4,35 (tt, $J = 6,5$ e $2,0$ Hz, 1H); 2,45 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 2,21 (dt, $J = 7,0$ e $2,0$ Hz, 2H); 1,90 (m, 2H); 1,50 (m, 2H); 1,40 (m, 2H); 1,30 (m, 4H); 0,91 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 177,0; 85,9; 81,8; 62,0; 34,4; 32,5; 30,7; 29,8; 29,5; 23,6; 19,3; 14,4. CG-EM m/z (intensidade relativa %): 194 (M^+ , 1), 165 (16), 151 (2), 137 (9), 124 (9), 109 (27), 95 (35), 85 (55), 79 (85), 67 (53), 55 (60), 41 (100), 39 (61).

6.18 – 5-(dec-1-ínil)-dihidrofuran-2(3*H*)-ona (17):

Fórmula molecular: $C_{14}H_{22}O_2$. CAS: 75629-71-9. IV (filme, cm^{-1}): 2928, 2232, 1711. . RMN 1H (300 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 4,35 (tt, $J = 6,3$ e $1,8$ Hz, 1H); 2,44 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 2,21 (dt, $J = 6,6$ e $1,8$ Hz, 2H); 1,95 (m, 2H); 1,40-1,25 (m, 12H); 0,89 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 177,0; 86,0; 81,8; 62,1; 34,4; 33,0; 30,8; 30,4; 30,2; 29,9; 29,8; 23,7; 19,3; 14,4. CG-EM m/z (intensidade relativa %): 222 (M^+ , 1), 193 (2), 175 (2), 165 (25), 147 (15), 137 (20), 124 (27), 107 (28), 95 (51), 93 (52), 81 (90), 79 (100), 67 (72), 55 (94), 41 (91).

6.19 – (Z)-5-(oct-1-enil)-dihidrofuran-2(3*H*)-ona (18):

Fórmula molecular: $C_{12}H_{20}O_2$. CAS: 156318-46-6. IV (filme, cm^{-1}): 3010, 2956, 2928, 2856, 1777, 1462, 1180, 1011, 979, 726. RMN 1H (300 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 5,45 (m, 1H); 5,30 (m, 1H); 4,42 (m, 1H); 2,33 (t, $J = 8$ Hz, 2H); 2,10 (m, 2H); 1,90-1,60 (m, 2H); 1,45-1,20 (m, 8H); 0,89 (t, $J = 7$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 177,2; 133,3; 132,9; 67,4; 33,7; 32,9; 30,9; 30,8; 30,1; 28,7; 23,7; 14,4. CG-EM m/z (intensidade relativa %): 196 (M^+ , 1), 167 (1), 153 (5), 136 (10), 125 (12), 111 (77), 98 (18), 85 (24), 81 (50), 67 (48), 55 (53), 41 (100).

6.20 – (Z)-5-(dec-1-enil)-dihidrofuran-2(3H)-ona (19):

Fórmula molecular: $C_{14}H_{24}O_2$. CAS: 64691-68-5. IV (filme, cm^{-1}): 2956, 2926, 2855, 1778, 1715, 1462, 1179. RMN 1H (300 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 5,68 (dtd, $J = 10,8, 7,5$ e $0,6$ Hz, 1H); 5,52-5,43 (m, 1H); 5,38-5,28 (m, 1H); 2,65-2,50 (m, 1H); 2,42-2,32 (m, 1H); 2,21-2,05 (m, 2H); 1,98-1,62 (m, 2H); 1,38-1,28 (m, 12H); 0,89 (t, $J = 6,5$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 177,2; 136,6; 128,8; 78,3; 33,0; 30,6; 30,5; 30,4; 30,2; 30,2; 29,8; 28,6; 23,7; 14,4. CG-EM m/z (intensidade relativa %): 224 (M^+ , 2), 167 (4), 164 (9), 140 (7), 126 (26), 111 (100), 95 (27), 85 (28), 81 (57), 79 (30), 67 (47), 55 (56), 41 (78).

6.21 – 5-etil-dihidrofuran-2(3H)-ona (20):

Fórmula molecular: $C_6H_{10}O_2$. CAS: 695-06-7. IV (filme, cm^{-1}): 2968, 1774, 1462, 1175, 971. RMN 1H (500 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 4,48 (qui, $J = 7$ Hz, 1H); 2,60-2,45 (m, 2H); 1,86 (dtd, $J = 14,5, 9,5$ e 8 Hz, 1H); 2,37-2,30 (m, 1H); 1,80-1,60 (m, 2H); 1,00 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 179,8; 83,9; 29,3; 29,1; 28,1; 9,4. CG-EM m/z (intensidade relativa %): 114 (M^+ , 4), 85 (100), 70 (19), 57 (32), 56 (28), 42 (25).

7. Espectros Seleccionados

Figura 7.1 – Espectro de RMN ¹H do composto 1 em CDCl₃ a 300 MHz.

Figura 7.2 – Espectro de RMN ¹³C do composto 1 em CDCl₃ a 75 MHz.

Figura 7.3 – Espectro de RMN ¹H do composto **2** em CDCl₃ a 300 MHz.

Figura 7.4 – Espectro de RMN ¹³C do composto **2** em CDCl₃ a 75 MHz.

Figura 7.5 – Espectro de RMN ¹H do composto **3** em CDCl₃ a 200 MHz.

Figura 7.6 – Espectro de RMN ¹³C do composto **3** em CDCl₃ a 50 MHz.

Figura 7.7 – Espectro de RMN ¹H do composto (rac)-1 em CDCl₃ a 300 MHz.

Figura 7.8 – Espectro de RMN ¹³C do composto (rac)-1 em CDCl₃ a 75 MHz.

Figura 7.11 – Espectro de RMN ¹H do composto *(rac)*-3 em CDCl₃ a 500 MHz.

Figura 7.12 – Espectro de RMN ¹³C do composto *(rac)*-3 em CDCl₃ a 125 MHz.

Figura 7.13 – Espectro de RMN ^1H do composto **4** em CDCl_3 a 200 MHz.

Figura 7.14 – Espectro de RMN ^{13}C do composto **4** em CDCl_3 a 50 MHz.

Figura 7.15 – Espectro de RMN ^1H do composto **5** em CDCl_3 a 200 MHz.

Figura 7.16 – Espectro de RMN ^{13}C do composto **5** em CDCl_3 a 50 MHz.

Figura 7.17 – Espectro de RMN ^1H do composto **6** em CDCl_3 a 200 MHz.

Figura 7.18 – Espectro de RMN ^{13}C do composto **6** em CDCl_3 a 50 MHz.

Figura 7.19 – Espectro de RMN ¹H do composto **7** em CD₃OD a 300 MHz.

Figura 7.20 – Espectro de RMN ¹³C do composto **7** em CD₃OD a 75 MHz.

Figura 7.21 – Espectro de RMN ^1H do composto **8** em CD_3OD a 300 MHz.

Figura 7.22 – Espectro de RMN ^{13}C do composto **8** em CD_3OD a 75 MHz.

Figura 7.23 – Espectro de RMN ¹H do composto **9** em CDCl₃ a 200 MHz.

Figura 7.24 – Espectro de RMN ¹³C do composto **9** em CDCl₃ a 50 MHz.

Figura 7.25 – Espectro de RMN ¹H do composto **11** em CD₃OD a 500 MHz.

Figura 7.26 – Espectro de RMN ¹³C do composto **11** em CD₃OD a 125 MHz.

Figura 7.27 – Espectro de RMN ¹H do composto **13** em CD₃OD a 300 MHz.

Figura 7.28 – Espectro de RMN ¹³C do composto **13** em CD₃OD a 75 MHz.

Figura 7.29 – Espectro de RMN ¹H do composto **14** em CD₃OD a 500 MHz.

Figura 7.30 – Espectro de RMN ¹³C do composto **14** em CD₃OD a 125 MHz.

Figura 7.31 – Espectro de RMN ¹H do composto 15 em CD₃OD a 300 MHz.

Figura 7.32 – Espectro de RMN ¹³C do composto 15 em CD₃OD a 75 MHz.

Figura 7.33 – Espectro de RMN ¹H do composto **16** em CD₃OD a 500 MHz.

Figura 7.34 – Espectro de RMN ¹³C do composto **16** em CD₃OD a 125 MHz.

Figura 7.35 – Espectro de RMN ¹H do composto **17** em CD₃OD a 300 MHz.

Figura 7.36 – Espectro de RMN ¹³C do composto **17** em CD₃OD a 75 MHz.

Figura 7.37 – Espectro de RMN ¹H do composto **18** em CD₃OD a 300 MHz.

Figura 7.38 – Espectro de RMN ¹³C do composto **18** em CD₃OD a 75 MHz.

Figura 7.39 – Espectro de RMN ¹H do composto **19** em CD₃OD a 300 MHz.

Figura 7.40 – Espectro de RMN ¹³C do composto **19** em CD₃OD a 75 MHz.

Figura 7.41 – Espectro de RMN ¹H do composto **20** em CD₃OD a 500 MHz.

Figura 7.42 – Espectro de RMN ¹³C do composto **20** em CD₃OD a 125 MHz.

8. Referências Bibliográficas

- ¹ Ghanem, A. *Tetrahedron* **2007**, 62, 1721-1754.
- ² (a) Knowles, W. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 1998-2007. (b) Noyori, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2008-2022. (c) Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2024-2032.
- ³ (a) Stephen, C. S. *Chem. Eng. News* **2001**, 79, 79-97. (b) Breuer, M.; Ditrach, K.; Habicher, T.; Hauer, B.; Kessler, M.; Stürmer, R.; Zelinski, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 788-824.
- ⁴ Carey, J. S.; Laffan, D.; Thomson, C.; Williams, M. T. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4, 2337-2347.
- ⁵ Tumlinson, J. H.; Klein, M. G.; Doolittle, R. E.; Ladd, T. L.; Proveaux, A. T. *Science* **1977**, 197, 789-792.
- ⁶ (a) Held, M.; Schmid, A.; van Beilen, J. B.; Witholt, B. *Pure Appl. Chem.* **2000**, 72, 1337-1343. (b) Hasan, F.; Shah, A. A.; Hameed, A. *Enzyme Microb. Technol.* **2006**, 39, 235-251.
- ⁷ (a) Brenna, E.; Fuganti, C.; Serra, S. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 2443-2451. (b) Franssen, M. C. R.; Alessandrini, L.; Terraneo, G. *Pure Appl. Chem.* **2005**, 77, 273-279.
- ⁸ Aleu, J.; Bustillo, A. J.; Hernandez-Galan, R.; Collado, I. G. *Curr. Org. Chem.* **2006**, 10, 2037-2054
- ⁹ (a) Aleu, J.; Bustillo, A. J.; Hernandez-Galan, R.; Collado, I. G. *Curr. Org. Chem.* **2007**, 11, 693-705. (b) Baraldi, P.; Corrêa, A. G. *Química Nova* **2004**, 27, 421-431.
- ¹⁰ (a) Patel, R. N. *Coord. Chem. Rev.* **2008**, 252, 659-701. (b) Mangas-Sanchez, J.; Rodríguez-Mata, M.; Busto, E.; Gotor-Fernández, V.; Gotor, V. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 5304-5310.
- ¹² Faber, K. *Biotransformations in Organic Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin, 5th Ed., **2004**.
- ¹³ Silverman R. B. *The Organic Chemistry of Enzyme-Catalyzed Reactions*, Academic Press: San Diego, **2002**.
- ¹⁴ Wohlgemuth, R. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2007**, 82, 1055-1062.
- ¹⁵ Theil, F. *Chem. Rev.* **1995**, 95, 2203-2227.

- ¹⁶ (a) Wikteliu, D. *Synlett* **2005**, 13, 2113-2114. (b) Ghanem, A.; Aboul-Enein, H. Y. *Chirality* **2005**, 17, 1-15. (c) Patel, R. N.; Banerjee, A.; Nanduri, V.; Goswami, A.; Comezoglu, F. T. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2000**, 77, 1015-1019.
- ¹⁷ Bommarius, A. S.; Riebel, B. R. *Biocatalysis*, WILEY-VCH, Weinheim, **2004**.
- ¹⁸ (a) Orrenius, C.; Hæffner, F.; Rotticci, D.; Oehmer, N.; Norin, T.; Hult, K. *Biocatal. Biotransform.* **1998**, 16, 1-15. (b) Kwon, Hoon, C.; Shin, D. Y.; Lee, J. H.; Kim, S. W.; Kang, J. W. *J. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, 17, 1098-1105.
- ¹⁹ (a) Kazlauskas R. J.; Weissfloch, A. N. E.; Rappaport, A. T.; Cuccia, L. A. *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 2656–2665. (b) Cygler, M.; Grochulski, P.; Kazlauskas, R. J.; Schrag, J. D.; Bouthillier, F.; Rubin, B.; Serreqi, A. N.; Gupta, A. K. *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 3180-3186•
- ²⁰ Jing, Q.; Kazlauskas, R. J. *Chirality* **2008**, 20, 724-735.
- ²¹ Morgan, B.; Oehlschlager, A. C.; Stokest, T. M. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 3231-3236.
- ²² Waldinger, C.; Schneider, M.; Botta, M.; Corelli, F.; Summa, V. *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, 7, 1485-1488.
- ²³ Abad, J.; Soldevila, C.; Camps, F.; Clapés, P. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 5351-5356.
- ²⁴ Xu, D.; Li, Z.; Ma, S. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, 14, 3657–3666.
- ²⁵ Xu, D.; Li, Z.; Ma, S. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 6343–6346.
- ²⁶ Raminelli, C.; Comasseto, J. V.; Andrade, L. H.; Porto, A. L. M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, 15, 3117-3122.
- ²⁷ Shibata, C.; Mori, K. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 5, 1083-1088.
- ²⁸ Pontikis, R.; Randrianosolo, L. R.; Le Merrer, Y.; Nam, N. H.; Azerad, R.; Depezay, J. *Can. J. Chem.* **1989**, 67, 2240-2242.
- ²⁹ Treilhou, M.; Fauve, A.; Pougny, J.; Promé, J.; Veschambre, H. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 3203-3208.
- ³⁰ Heiss, C.; Phillips, R. S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **2000**, 1, 2821-2825.
- ³¹ Gariani, R.; Comasseto, J. V. *Tetrahedron* **2009**, no prelo.
- ³² Costa, C. E.; Clososki, G. C.; Barchesi, H. B.; Zanotto, S. P.; Nascimento, M. G.; Comasseto, J. V. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, 15, 3945-3954

- ³³ Dos Santos, A. A.; Costa, C. E.; Princival, J. L.; Comasseto, J. V. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 2252-2259.
- ³⁴ Lima, A. W. O.; Agnes, L. *Química Nova* **1999**, *22*, 229-245.
- ³⁸ Uppenberg, J.; Hansen, M. T.; Patkar, S.; Jones, T. A. *Structure* **1994**, *2*, 293-308.
- ³⁹ (a) de Fátima, A.; Zambuzzi, W. F.; Modolo, L. V.; Tarsitano, C. A. B.; Gadelha, F. R.; Hyslop, S.; de Carvalho, J. E.; Salgado, I.; Ferreira, C. V.; Pilli, R. A. *Chem. Biol. Interact.* **2008**, *176*, 143-150. (b) de Fátima, A.; Kohn, L. K.; de Carvalho, J. E.; Pilli, R. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 622-631.
- ⁴⁰ Wattanapiromsakul, C.; Wangsintaweekul, B.; Sangprapan, P.; Itharat, A.; Keawpradub, N. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **2005**, *27*, 479-487.
- ⁴¹ de Fátima, A.; Kohn, L. K.; Antônio, M. A.; de Carvalho, J. E.; Pilli, R. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 5437-5442.
- ⁴² Hiscox, W.C.; Matteson, D. S. *J. Organomet. Chem.* **2000**, *614-615*, 314-317.
- ⁴³ Tóth, M.; Subchev, M.; Sredkov, I.; Szarukán, I.; Leal, W. J. *Chem. Ecol.* **2003**, *29*, 1643-1649.
- ⁴⁴ (a) Fukusaki, E.; Senda, S.; Nakazono, Y.; Omata, T. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 6223-6230. (b) Ramachandran, P. V.; Krzeminski, M. P.; Reddy, M. V. R.; Brown, H. C. *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 11-15. (c) Sugai, T.; Ohsawa, S.; Yamada, H.; Ohta, H. *Synthesis* **1990**, *12*, 1112-1114.
- ⁴⁵ Soai, K.; Yokoyama, S.; Hayasaka, T.; Ebihara, K. *Chem. Lett.* **1988**, *5*, 843-846.
- ⁴⁶ Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 4467-4470.
- ⁴⁷ (a) Furniss, B. S.; Hannaford, A. J.; Smith, P. W. G.; Tatchell, A. R. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, Longman Scientific & Technical, 5th Ed., Harlow, **1989**. (b) Larock, R. C. *Comprehensive Organic Transformations*, VHC, New York, **1989**.
- ⁴⁸ Maercker, A.; Graule, T.; Girreser, U. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 167-168.
- ⁴⁹ Yu, J.; Gaunt, M. J.; Spencer, J. B. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4627-4629.
- ⁵⁰ Alves, D.; Nogueira, C. W.; Zeni, G. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8761-8764.

- ⁵¹ Arceo, E.; Odriozola, J. M.; García, J. M.; González, A.; Gil, P. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 1617-1621.
- ⁵² Perrin, D. D.; Armarego, W. L. *Purification of Laboratory Chemicals*, 4th Ed. Pergamon Press, New York, **1997**.