**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA**

“Aplicação da biocatálise na síntese de γ -butirolactonas bioativas quirais. Novos reagentes visando a preparação estereosseletiva de análogos da vitamina A”

GIULIANO CESAR CLOSOSKI

TESE DE DOUTORADO

Orientador: Prof. Dr. João V. Comasseto

**São Paulo
2005**

**"Aplicação da biocatálise na síntese de γ -
butirolactonas bioativas quiriais. Novos
reagentes visando a preparação
estereosseletiva de análogos da vitamina A"**

GIULIANO CESAR CLOSOSKI

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química - Área: Química Orgânica.

Aprovado(a) por:

Prof. Dr. JOÃO VALDIR COMASSETO
IQ - USP
(Orientador e Presidente)

Profa. Dra. LILIANA MARZORATI
IQ - USP

Prof. Dr. LEANDRO HELGUEIRA DE ANDRADE
IQ - USP

Prof. Dr. PAULO JOSÉ SAMENHO MORAN
IQ - UNICAMP

Prof. Dr. FÁBIO SIMONELLI
UFPr

SÃO PAULO
25 DE JULHO 2005

*Aos meus queridos pais, Julio e
Soeli, pela educação baseada em
amor, carinho e respeito.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela proteção e constante amparo.

Ao Professor Comasseto pelo seu profissionalismo, pelas excelentes condições de trabalho, pela liberdade para desenvolver os projetos e por ter me ensinado muito mais do que Química. Gostaria também de registrar minha gratidão pelo apoio que possibilitou minha participação em congressos internacionais e a realização do estágio no exterior. Sobretudo, agradeço pela confiança em mim depositada durante todo este período. Muito obrigado!

Aos amigos que estão ou estiveram no laboratório durante este período: Dennis, Takeo, Rodrigo, Mirian, Nathália, F. Kauer, Cristiano, Artur, Martin, Fabiano, Silas, Felipe, Nilson, Zinc, João, Bruno e Zé pelo ótimo ambiente de trabalho. Ao pessoal do Bloco 0, especialmente a Solange, Leandro, André, Roberto e Leonardo por estarem sempre dispostos a colaborar. Ao Carlos Eduardo (Cadu) por ter sempre compartilhado sua experiência em biocatálise e pelos trabalhos em colaboração.

Aos meus “aluninhos de IC” Roberson, Paulo (Sorriso), Guilherme, Henrique (Sussa) e Luis Cesar. A participação de vocês neste trabalho e na minha formação foi muito importante!! Desejo muito sucesso a todos, pois também aprendi muito com vocês!

A Professora Helena M. C. Ferraz e a todo seu grupo pela amizade, cervejas, colaboração sem restrições e por todas as discussões.

Aos funcionários da Central Analítica pelas análises realizadas e ao pessoal da Secretaria de Pós-Graduação, por terem sempre sido sempre muito prestativos.

Ao Alexandre Sardelli e a D. Rosa, pessoas extremamente competentes e muito importantes no funcionamento do laboratório.

Ao Alcindo, pela leitura crítica do manuscrito desta tese e pelas sugestões. A curta mas excelente convivência fortaleceu muito a nossa amizade!

A Priscila, por ter me ajudado a dar os primeiros passos na Califórnia. O apoio inicial dado por você no laboratório do Professor Lipshutz foi muito importante e fez bastante diferença. Sua companhia foi sempre muito agradável, jamais esquecerei.

Ao Professor Bruce H. Lipshutz pela oportunidade de trabalhar em seu grupo, pelas ótimas condições de trabalho oferecidas e principalmente por estar sempre aberto as discussões. Pelo apoio financeiro que foi fundamental durante minha estada nos EUA.

A todos os colegas de laboratório da UCSB, especialmente aos amigos Yasmine, Bob, Mathias e Beatriz por terem proporcionado um bom ambiente de trabalho. Ao Dave pela amizade, cervejas e colaboração na reta final deste trabalho.

Aos amigos de Santa Barbara: Enrique, Gisele, Sara, Tom, Cassandra, Alex, James, Jinnie, Luis, Richard e Rodrigo. Vocês contribuíram para que aquele ano seja inesquecível pra mim!

A Ms Pearl e a Ms Baker pelos “cookies” e por todos os esforços em me fazer entender a “América”.

Aos meus queridos pais Julio e Soeli e aos meus irmãos Wagner e Giuvana (Totinha), pelo apoio total em tudo que decidi fazer, mesmo que muitas vezes com o coração apertado...

A Simone que, mesmo de longe, compartilhou de perto todas minhas alegrias e frustrações.

A Fapesp pela bolsa de doutorado e pela reserva técnica, que permitiu a participação nos congressos nacionais e internacionais. A Capes pela bolsa de doutorado sanduíche e pelas passagens aéreas aos EUA.

A todos que, de uma forma ou de outra, contribuíram com este trabalho e com minha formação.

LISTA DE ABREVIATURAS

Bn	- Benzil
<i>E</i>	- razão enantiomérica
EM	- espectro de massas / espectrometria de massas
CCD	- cromatografia em camada delgada
CG	- cromatografia gasosa
DCE	- dicloroetano
DIBAL-H	- hidreto de di-isobutilaluminio.
DMF	- <i>N,N</i> -dimetilformamida
DMS	- dimetilsulfeto
DMSO	- dimetil sulfóxido
<i>ee</i>	- excesso enantiomérico
EMAR	- espectro de massas de alta resolução
HPLC	- cromatografia líquida de alta eficiência
IV	- infravermelho
<i>J</i>	- constante de acoplamento em Hz
LiHMDS	- hexametildisilazida de lítio
M^+	- íon molecular
MCPBA	- ácido <i>m</i> -cloroperbenzóico
<i>m/z</i>	- relação carga massa
NaHMDS	- hexametildisilazida de sódio
NIS	- <i>N</i> -iodosuccinimida
<i>nOe</i>	- nuclear Overhauser effect
PCC	- complexo piridina-cloro-cromato
PPL	- lipase pancreática de porco
PTSA	- ácido <i>p</i> -toluenosulfônico
Red-Al	- hidreto de bis(2-metoxietoxi) alumínio
RMN 1H	- ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ^{13}C	- ressonância magnética nuclear de carbono
<i>ta</i>	- temperatura ambiente
TMS	- trimetilsilano
Ts	- tosil
THF	- tetrahidrofurano

ÍNDICE

Lista de Abreviaturas.....	vi
Resumo.....	xiii
Abstract.....	xv
Objetivos gerais.....	xvii
Capítulo 1 – Aplicação da biocatálise na síntese de γ-butirolactonas	
bioativas quirais.....	1
1.1. Introdução.....	3
1.1.1. A biocatálise e a tecnologia quiral.....	2
1.1.2. A catálise enzimática.....	3
1.1.3. Aplicação de enzimas em Síntese Orgânica.....	6
1.1.4. Biocatálise na preparação de γ -butirolactonas quirais.....	10
1.2. Biocatálise na preparação de ambos enantiômeros da fenilseleno-γ-butirolactona (12).....	14
1.2.1. Justificativa, objetivos específicos e estratégia sintética.....	14
1.2.2. Resultados e discussão.....	15
1.2.2.1. Preparação do 4-hidróxi-5-fenilselanilpentanoato de propila (13a).....	15
1.2.2.2. Preparação do 4-hidróxi-5-fenilselanilpentanoato de metila (13b) e de benzila (13c).....	17
1.2.2.3. Resolução cinética enzimática dos fenilseleno-hidroxiésteres (13a-c).....	18
1.2.2.4. Ciclização dos (S)-fenilseleno-hidroxiésteres (13a-c).....	21
1.2.2.5. Determinação dos ee das (R) e (S)-fenilselenolactonas.....	22
1.2.2.6. Determinação da configuração absoluta da fenilselenolactona (12).....	25
1.2.2.7. Hidrólise enantiosseletiva das fenilselenolactonas.....	27
1.3. Síntese enantiosseletiva da (R)-γ-jasmolactona.....	32
1.3.1. Justificativa, objetivos específicos e estratégia sintética.....	32
1.3.2. Resultados e discussão.....	34
1.3.2.1. Preparação do 4-hidroxiheptanoato de dibenzila (18).....	34
1.3.2.2. Preparação do (3R,5-oxotetraidro-2-furanil)propanoato de benzila (19).....	35

1.3.2.3. Preparação do (<i>R</i>)-3-(5-hidroxi-tetraidro-2-furanil)-propanoato de benzila (22).....	36
1.3.2.4. Síntese da (<i>R</i>)- γ -jasmolactona.....	38
1.4. Síntese enantiosseletiva da (<i>S</i>)-γ-jasmolactona.....	42
1.4.1. Justificativa, objetivos específicos e estratégia sintética.....	42
1.4.2. Resultados e discussão.....	42
1.4.2.1 Preparação do (<i>S</i>)-3-(5-oxotetraidro-2-furanil)-propanal (20).....	42
1.4.2.2. Síntese da (<i>S</i>)- γ -jasmolactona.....	43
1.5. Síntese enantiosseletiva da (<i>R</i>) e da (<i>S</i>)-(Z)-7,15-hexadecadien-4-olida (28), feromônio sexual da “Yellowish Elongate Chafer”, <i>Heptophilla picea</i>.....	45
1.5.1. Justificativa, objetivos específicos e estratégia sintética.....	45
1.5.2. Resultados e discussão.....	47
1.5.2.1. Preparação do brometo de alil magnésio (30).....	47
1.5.2.2. Preparação do 6-bromo-1-hexanol (32).....	48
1.5.2.3. Preparação do iodeto de trifenil-(8-nonenil)-fosfônio (36).....	48
1.5.2.4. Síntese racêmica da (Z)-7,15-hexadecadien-4-olida (28).....	49
1.5.2.5. Síntese enantiosseletiva da (<i>R</i>) e da (<i>S</i>)-(Z)-7,15-hexadecadien-4-olida....	51
1.6. Conclusões e perspectivas.....	54
Capítulo 2 - Novos reagentes visando a preparação estereosseletiva de análogos da vitamina A.....	56
2.1. Introdução.....	57
2.1.1. Os Retinóides.....	57
2.1.2. Preparação dos retinóides.....	59
2.2. Objetivos específicos e estratégia sintética.....	63
2.3. Resultados e discussão.....	65
2.3.1. Preparação dos estanildieninos 63 e 64.....	65
2.3.2. Preparação dos haletos vinílicos.....	66
2.3.3. Acoplamento dos estanildieninos 63 e 64 com haletos vinílicos.....	68
2.3.4. Desililação dos trieninos.....	72
2.3.5. Carboaluminação dos trieninos terminais.....	73

2.3.6. Adição de cupratos aos ésteres trienínicos: Preparação dos retinóides (9E,13Z).....	81
2.3.7. Hidrogenação do éster acetilênico 114	85
2.4. Conclusões e perspectivas.....	87
3. Referências bibliográficas	88
4. Parte experimental	99
4.1. Generalidades.....	100
4.1.1. Reações realizadas no IQ-USP.....	100
4.1.2. Reações realizadas no departamento de química da UCSB.....	101
4.2. Preparação da ($\pm$)-5-fenilseleniltetraidro-2-furanona (12).....	102
4.3. Preparação do 4-hidróxi-5-fenilselanilpentanoato de propila (13a) - Rota a.....	102
4.4. Preparação do ($\pm$)-4-hidróxi-5-fenilselanilpentanoato de metila (13b).....	103
4.5. Preparação do ($\pm$)-4-hidróxi-5-fenilselanilpentanoato de benzila (13c).....	104
4.6. Preparação do 4-pentenoato de propila (14).....	104
4.7. Preparação do 4-oxipentanoato de propila (15).....	105
4.8. Preparação do 4-hidroxi-5-fenilselanilpentanoato de propila (13a) - Rota b.....	105
4.9. Procedimento típico para resolução enzimática dos ésteres 13a-c	106
4.10. Procedimento típico para enantiolactonização promovida por Novozym 435.....	107
4.11. Redução dos selenetos, síntese da γ -valerolactona (16).....	107
4.12. Preparação do 4-cetoeptanoato de dibenzila (24).....	108
4.13. Preparação do 4-hidroxiheptanodiato de dibenzila (18).....	108
4.14. Preparação do (<i>R</i>)-3-(5-oxotetraidro-2-furanil)-propanoato de benzila (14).....	109
4.15. Preparação do (<i>R</i>)-3-(5-hidroxi-tetraidro-2-furanil)-propanoato de benzila (22).....	110
4.16. Síntese da (<i>R</i>)-jasmolactona [(<i>Z</i>)-(<i>R</i>)-(+)-7-decen-4-olida] (21).....	110
4.17. Preparação do ácido (<i>S</i>)-3-(5-oxotetraidro-2-furanil)-propanóico (26).....	111
4.18. Síntese do (<i>S</i>)-3-(5-hidroxipropil)tetraidro-2(3 <i>H</i>)-furanona (27).....	112
4.19. Preparação do (<i>S</i>)-3-(5-oxotetraidro-2-furanil)-propanal (20).....	112
4.20. Síntese da (<i>S</i>)-(-)-jasmolactona [(<i>Z</i>)-(<i>S</i>)-7-decen-4-olida] (21).....	113
4.21. Preparação do 6-bromo-1-hexanol (32).....	113
4.22. Preparação do brometo de alil magnésio (30).....	114

4.23. Preparação do 8-nonen-1-ol (33).....	114
4.24. Preparação do tosilato 38.....	115
4.25. Preparação do 9-iodo-1-noneno (34).....	115
4.26. Preparação do iodeto de trifenil-(8-nonenil)-fosfônio (36).....	116
4.27. Preparação do ($\pm$) ácido-3-(5-oxotetraidro-2-furanil)-propanóico (26).....	116
4.28. Preparação do 6-Bromo-1-hexanol (35).....	117
4.29. Preparação do brometo de trifenil(8-nonenil) fosfônio (37).....	117
4.30. Preparação da (S)-(Z)-7,15-hexadecadien-4-olida (28).....	118
4.31. Preparação da (R)-(Z)-7,15-hexadecadien-4-olida (28).....	118
4.32. Derivatização e determinação da pureza enantiomérica das (S) e (R)-(Z)-7,15-hexadecadien-4-olidas (28).....	119
4.33. Preparação do (E)-3-tributilestanil-but-2-en-1-ol (69).....	119
4.34. Preparação do (E)-3-tributilestanil-but-2-en-1-al (65).....	120
4.35. Preparação do brometo de tri- <i>n</i> -butil-(3-trimetilsilil-2-propinil)-fosfônio (66)....	121
4.36. Preparação do [(3E,5E)-6-(tributilestanil) hepta-3,5-dien-1-inil]-trimetilsilano (63).....	122
4.37. Preparação do (Z)-3-tributilestanil-but-2-en-1-ol (70).....	123
4.38. Preparação do (Z)-3-tributilestanil-but-2-en-1-al (67).....	124
4.39. Preparação do (3E,5Z)-6-(tributilestanil)hepta-3,5-dien-1-inil]-trimetilsilano (64).....	125
4.40. Preparação do 1-iodo-oct-1-eno (72).....	126
4.41. Preparação do 1,2-bis-benziloxi-4-(2-iodo-vinil)benzeno (74).....	126
4.42. Preparação do pent-4-iniloximetilbenzeno (76).....	127
4.43. Preparação do (E)-2-(5-benziloxipent-1-enil)-pinacolborolana (77).....	128
4.44. Preparação do (E)-(5-iodo-pent-4-eniloximetil) benzeno (78).....	129
4.45. Procedimento geral para reação de acoplamento.....	130
4.46. [(3E,5E,7E)-11-(benziloxi)-6-metilundeca-3,5,7-trien-1-inil]trimetilsilano (80)..	130
4.47. Trimetil[(3E,5E,7E)-6-metiltetradeca-3,5,7-trien-1-inil]silano (81).....	131
4.48. [(3E,5E,7E)-8-(3,4-Bis(benziloxi)-fenil)-6-metilocta-3,5,7-trien-1-inil]-trimetilsilano (82).....	131
4.49. Trimetil[(3E)-6-metil-8-fenilocta-3,5,7-trien-1-inil]silano (83).....	132

4.50. [(3E,5E)-6-(1,2,3,4-tetrahidro-1,1,4,4-tetrametil-6-propoxinaftalen-7-il)-hepta-3,5-dien-1-inil]trimetilsilano (84).....	132
4.51. [(3E,5Z,7E)-11-(benziloxi)-6-metilundeca-3,5,7-trien-1-inil]trimetilsilano (85)..	133
4.52. Trimetil[(3E,5Z,7E)-6-metiltetradeca-3,5,7-trien-1-inil]silano (86).....	134
4.53. [(3E,5E,7E)-8-(3,4-bis(benziloxi)-fenil)-6-metilocta-3,5,7-trien-1-inil]-trimetilsilano (87).....	134
4.54. Procedimento geral da reação de desililação.....	134
4.55. 1-[(4E,6E,8E)-6-Metilundeca-4,6,8-trien-10-iniloxi]metil} benzeno (97).....	135
4.56. 1-[(4E,6Z,8E)-6-Metilundeca-4,6,8-trien-10-iniloxi]metil} benzeno (98).....	136
4.57. 1,2-Bis(benziloxi)-4-[(1E,3E,5E)-3-metilocta-1,3,5-trien-7-inil] benzeno (99)..	136
4.58. (3E,5Z,7E)-6-Metiltetradeca-3,5,7-trien-1-ina (100).....	137
4.59. 6-[(2Z,4E)-Hepta-2,4-dien-6-in-2-il]-1,2,3,4-tetraidro-1,1,4,4-tetrametil-7-propoxinaftaleno (101).....	138
4.60. (3E,5E,7E)-6-Metiltetradeca-3,5,7-trien-1-ino (102).....	138
4.61. Procedimento geral da reação de carboaluminação dos trieninos.....	139
4.62. (2E,4E,6E,8E)-Metil 12-(benziloxi)-3,7-dimetildodeca-2,4,6,8-tetraenoato (105).....	139
4.63. (2E,4E,6E,8E)-3,7-Dimetilpentadeca-2,4,6,8-tetraenoato de metila (106).....	140
4.64. (2E,4E,6Z,8E) 12-(Benziloxi)-3,7-dimetildodeca-2,4,6,8-tetraenoato de metila (108).....	140
4.65. (2E,4E,6Z,8E)-3,7-Dimetilpentadeca-2,4,6,8-tetraenoato metila (109).....	141
4.66. (2E,4E,6Z)-7-(1,2,3,4-Tetraidro-1,1,4,4-tetrametil-6-propoxinaftalen-7-il)-3-metil-octa-2,4,6-trienoato de metila (110).....	142
4.67. (2E,4E,6E,8E)-12-(Benziloxi)-3-etil-7-metildodeca-2,4,6,8-tetraenoato de metila (111).....	142
4.68. 1-[(4E,6E,8E,10E)-11-Iodo-6,10-dimetilundeca-4,6,8,10-tetraeniloxi] me-til} benzeno (113).....	143
4.69. (4E,6Z,8E)-12-(Benziloxi)-7-metildodeca-4,6,8-trien-2-inoato de metila (114)	144
4.70. (2Z,4E,6E,8E)-12-(Benziloxi)-3,7-dimetildodeca-2,4,6,8-tetraenoato de metila (115).....	144

4.71. (2Z,4E,6E,8E)-12-(Benziloxi)-7-metildodeca-2,4,6,8-tetraenoato de metila (118).....	145
Espectros seleccionados	147
Curriculum vitae	178

OBJETIVOS GERAIS

O objetivo principal da primeira parte deste trabalho foi a aplicação da biocatálise na preparação de γ -butirolactonas bioativas quirais. Para tal foi proposta a preparação enantiosseletiva das fenilseleno- γ -butirolactonas a partir da resolução cinética dos fenilseleno- γ -hidróxi ésteres correspondentes. Além disso, estes estudos poderiam revelar informações importantes sobre a compatibilidade dos sistemas enzimáticos frente a substratos contendo o átomo de selênio.

Paralelamente a estes estudos, propôs-se a aplicação de intermediários quirais contendo o átomo de selênio ou não, provenientes de reações catalisadas por enzimas, na síntese enantiosseletiva de algumas lactonas de interesse sintético, como a γ -jasmolactona e a (7Z)-7,15-hexadecadien-4-olida.

A segunda parte deste trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de dois novos reagentes, visando sua aplicação na preparação estereosseletiva de retinóides. Neste caso, os reagentes foram planejados de forma a possibilitarem um acesso fácil, rápido e controlado ao esqueleto destes polienos, que possuem estrutura análoga a da vitamina A.

Capítulo 1

**“Aplicação da biocatálise na síntese de
 γ -butirolactonas bioativas quirais”**

1.1. INTRODUÇÃO

1.1.1. A biocatálise e a tecnologia quiral

Nenhum aspecto da síntese orgânica recebeu nas últimas décadas tanta atenção quanto à preparação de compostos de maneira enantiosseletiva. Recentemente os químicos K. Barry Sharpless, Ryoji Noyori e W. S. Knowles foram homenageados com o prêmio Nobel de Química por suas importantes contribuições no desenvolvimento de técnicas de síntese assimétrica.¹ Parte destes avanços, como o desenvolvimento de novos catalisadores quirais, têm encontrado vasta aplicação sintética sendo mais recentemente utilizados em processos industriais.²

Como a atividade biológica das substâncias está freqüentemente relacionada com sua pureza óptica, existe um grande interesse da indústria farmacêutica em substituir drogas racêmicas por enantiopuras,³ interesse que vem agora sendo estendido à indústria de fragrâncias.^{4,5} Sabe-se que dois enantiômeros podem interagir de forma diferenciada num organismo, e em alguns casos apresentar diferentes atividades.⁶ Entre estas, observa-se desde a distinção de odores até efeitos teratogênicos ou de toxicidade, entretanto, os fármacos quirais são considerados importantes não apenas pelo seu caráter biológico, mas também pelo caráter econômico.

No ano 2000 o faturamento nas vendas de fármacos quirais superou 130 bilhões de dólares num mercado que cresce 13% ao ano, sendo que isso representa 40% de todos os medicamentos vendidos.³ Para 2005 o faturamento esperado é da ordem de 171 bilhões de dólares. Para acompanhar tais mudanças, as indústrias farmacêuticas têm ajustado seus processos no sentido de controlar a estereoquímica dos novos fármacos através de sínteses assimétricas.

Neste contexto a biocatálise, que é a aplicação de enzimas como catalisadores, vem destacando-se rapidamente.^{7,8} Ela vem sendo empregada na síntese enantiosseletiva de produtos naturais tais como fragrâncias,⁹ pesticidas e feromônios,¹⁰ e especialmente na indústria farmacêutica.^{11,12} As maiores

aplicações da biocatálise concentram-se na síntese assimétrica, onde enzimas vêm sendo empregadas em substituição aos processos químicos clássicos.^{13,14}

As enzimas são catalisadores muito eficientes, podendo ser empregadas em baixas concentrações e, ao contrário dos metais pesados, são biodegradáveis.¹⁵ Em alguns casos as transformações podem ocorrer em meio aquoso, evitando o uso de solventes orgânicos poluentes. Elas são geralmente muito seletivas em termos dos tipos das reações catalisadas, com relação à estrutura e estereoquímica do substrato e do produto. Esta propriedade constitui a especificidade de uma enzima, sendo esta sua característica mais importante para a exploração e uso em síntese orgânica.¹⁶

1.1.2. A catálise enzimática

Enzimas são proteínas naturais que catalisam reações químicas com alta especificidade.¹⁷ Elas são formadas por subunidades de aminoácidos e possuem em suas estruturas grupos polares tais como COOH, OH, NH₂, SH e CONH₂. Todas possuem estruturas complexas de cadeias polipeptídicas que se mantêm estáveis em meio aquoso, entretanto poucas possuem sua estrutura tridimensional definida ou mesmo seu mecanismo de ação descrito.¹⁸

As enzimas, assim como os demais catalisadores, aceleram a velocidade das reações diminuindo a barreira energética entre reagentes e produtos. Esse efeito ocorre devido à formação de complexos intermediários entre o substrato e o biocatalizador. As principais interações que contribuem para a formação do complexo enzima-substrato são a formação de ligações covalentes, a ligação hidrogênio e as interações iônicas, íon-dipolo, dipolo-dipolo, hidrofóbicas além das forças de *Van der Waals*.

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 (Figura 1.1).

Figura 1.1 - Diagrama de energia de reação catalisada vs não catalisada enzimaticamente.

Dentre as teorias que vem sendo desenvolvidas para entender a catálise enzimática, um dos modelos mais ilustrativos continua sendo a clássica hipótese “chave-fechadura”, desenvolvido por Emil Fischer em 1894.¹⁹ Este modelo, entretanto, falha ao não explicar porque muitas enzimas podem converter não apenas substratos naturais, mas também compostos não naturais possuindo estruturas algumas vezes bem distintas.

Um modelo mais sofisticado foi proposto por Kosland²⁰ no final da década de 1960 e assume que as enzimas não são estruturas totalmente rígidas. De acordo com esta proposta, conhecida como “ajustamento induzido”, durante a aproximação enzima-substrato várias interações ocorrem resultando em mudanças conformacionais no sítio ativo da enzima, facilitando a formação do complexo enzima-substrato (Figura 1.2).¹⁷

Figura 1.2 – Representação esquemática do mecanismo de “ajuste induzido”.

De maneira geral as reações enzimáticas são muito mais rápidas que as reações químicas convencionais. Na tentativa de explicar este fenômeno Dewar postulou uma teoria conhecida como “teoria da desolvatação”,²¹ na qual o comportamento das reações enzimáticas é comparado àquele que ocorre em fase gasosa. De acordo com essa teoria, quando o substrato entra no sítio ativo da enzima, esta expulsa todas as moléculas de água presentes. Num ambiente anidro as reações ocorrem mais facilmente levando a um aumento na velocidade da reação. Esta teoria foi em seguida estendida à outra, conhecida como teoria da solvatação-substituição.²² Esta é baseada no fato de que a enzima não poderia simplesmente expulsar todas as moléculas de água, pois este processo seria energeticamente desfavorável. Neste caso, provavelmente, as moléculas de água são acomodadas em outras partes da enzima liberando os possíveis substratos hidrofóbicos e o sítio hidrofóbico das enzimas, favorecendo a formação do complexo enzima-substrato.

Uma maneira largamente utilizada para explicar a enantiosseletividade das reações enzimáticas é conhecida como “lei dos três pontos” e foi sugerida por

Ogston em 1948.²³ Considerando-se que a quiralidade é um atributo espacial, para que a enantiosseletividade seja máxima, o substrato necessita estar firmemente posicionado em três dimensões no sítio enzimático. Para tal é necessário que existam pelo menos três pontos de ligação entre o substrato e o sítio ativo da enzima.

Teoricamente, toda estereosseletividade das enzimas origina-se da diferença de energia do complexo enzima-substrato no estado de transição $[ES]^\ddagger$. Supondo uma reação de uma enzima com os enantiômeros A e B, os complexos enzima-substrato diastereoisoméricos formados serão $[EA]^\ddagger$ e $[EB]^\ddagger$, os quais possuem diferentes valores de energia livre (ΔG) para seus respectivos estados de transição $[EA]^\ddagger$ e $[EB]^\ddagger$. O resultado é a diferença na energia de ativação para ambos substratos enantioméricos e, como consequência, um enantiômero será transformado mais rapidamente que o outro (Figura 1.3). O valor da diferença em energia livre, expressa como $\Delta\Delta G^\ddagger$, fornece uma medida direta da seletividade da reação.

Figura 1.3 - Diagrama de energia para uma reação enantiosseletiva catalisada por enzima.

1.1.3. Aplicação de enzimas em Síntese Orgânica

Embora uma das primeiras observações da atividade enzimática date de 1783, apenas em 1960 Hirs e colaboradores²⁴ determinaram pela primeira vez a seqüência de aminoácidos de uma enzima, no caso a da Ribonuclase A. Desde

então o uso de enzimas em síntese orgânica vem crescendo exponencialmente e, atualmente, os dados registram mais de 8000 artigos e patentes que descrevem cerca de 18500 biotransformações mediadas por enzimas e microorganismos.²⁵ Parte destes avanços podem ser atribuídos aos progressos muito recentes na área de biologia molecular, nas técnicas de instrumentação e de “screening” de enzimas.

Muitas são as vantagens de utilizar enzimas em síntese orgânica, mas três características se destacam:²⁶

- (i) Quimiosseletividade: Uma vez que o propósito de uma enzima é atuar em um único tipo de grupo funcional, outras funcionalizações sensíveis, que deveriam reagir normalmente com certo grau sobre catálise química, são preservadas.
- (ii) Regiosseletividade: Devido a sua complexa estrutura tridimensional, enzimas podem distinguir entre grupos funcionais que estão quimicamente situados em regiões diferentes no mesmo substrato.
- (iii) Enantiosseletividade: Toda enzima é feita de L-aminoácidos e assim são catalisadores quirais. Como consequência, algum tipo de quiralidade presente no substrato é reconhecida. Assim, um substrato pró-quiral pode ser transformado em um produto opticamente ativo e ambos enantiômeros de um substrato podem reagir em diferentes velocidades, dispondo de uma resolução cinética.

As enzimas mais utilizadas são classificadas pela “International Union of Biochemistry” em seis classes, de acordo com o tipo e reação que catalisam²⁷ (Tabela 1).

Tabela 1.1 - Classificação das enzimas

Classe de enzimas	Tipo de reação	Utilidade ^a
1 – Oxiredutases	Oxidação-redução: oxidação de C-H, C-C, C=C, remoção ou adição de hidrogênios	25%
2 – Transferases	Transferência de grupos: aldeídicos, cetônicos, acila, açúcares.	5%
3 – Hidrolases	Formação e hidrólise de ésteres, amidas, lactonas, lactamas, epóxidos, nitrilas, anidridos	65%
4 – Liases	Adição-eliminação de pequenas moléculas em C=C, CN, C=O	5%
5 – Isomerases	Isomerização tal como racemização e epimerização	1%
6 – Ligases	Formação e clivagem de C-O, C-S, C-N, C-C, com concomitante clivagem de trifosfato	1%

^aPesquisas com enzimas entre os anos 1987-1999

Como observado na tabela 1.1 as enzimas são catalisadores ativos que podem ser usadas em amplo espectro de reações. Por exemplo, algumas possibilidades de transformações de esteres são apresentadas no esquema 1.1.

Esquema 1.1

As enzimas hidrolíticas são as mais frequentemente usadas em síntese orgânica. Nesta classe estão incluídas as amidases, proteases, esterases, nitrilases, fosfatases e epoxidases, sendo de particular e grande interesse as lipases.

As lipases (triglicerol acila hidrolases) são enzimas que hidrolisam triglicerídeos em ácidos graxos livres e glicerol. Elas são muito utilizadas devido à sua versatilidade catalítica, disponibilidade comercial e baixo custo, além de não requererem cofatores. Em solventes orgânicos, as lipases catalisam a transferência de grupos acila de compostos doadores para uma ampla faixa de compostos aceptores diferentes da água. Dependendo do tipo do doador de acila e doceptor, as reações catalisadas por lipases incluem esterificações e transesterificações,²⁸ amidação,²⁹ síntese de peptídeos³⁰ e formação de lactonas.³¹ Destas possibilidades, a síntese e/ou transesterificação enantiosseletiva de ésteres é de muito interesse, pois fornecem aos químicos orgânicos sintéticos um método fácil para a preparação de álcoois e ácidos opticamente ativos.

A escolha de um método biocatalítico adequado para determinada reação depende de muitos fatores, tais como seleção de um biocatalisador disponível, bons rendimentos, velocidade reacional adequada, fácil separação dos produtos e estabilidade das enzimas. Para tal, elas podem ser aplicadas tanto na sua forma isolada ou purificada quanto a partir do uso de células vivas.

Alguns dos principais problemas do uso de enzimas em síntese orgânica estão relacionados à falta de estabilidade em condições operacionais e à perda da atividade catalítica, devido a auto-oxidações e à desnaturação pelo solvente. Como as enzimas são moléculas solúveis em água pode haver, algumas vezes, dificuldades no isolamento dos produtos ou recuperação dos substratos.³²

Para resolver tais problemas uma importante estratégia é o uso de enzimas imobilizadas, técnica que envolve o uso de suportes sólidos.³³ Neste caso algumas características tais como seletividade e estabilidade podem ser drasticamente alteradas,³⁴ fato que pode melhorar ou não o desempenho da

enzima. Uma das principais vantagens do uso desta técnica é a possibilidade de recuperação do catalisador para conseqüente reutilização.

Atualmente, a aplicação da biocatálise na produção de moléculas de alto valor agregado está conectada à alta tecnologia industrial. Uma análise de 134 processos revelou que a classe das hidrolases, presente em 44% dos processos, é a mais promissora na indústria de química fina.³⁵ A maioria absoluta destes processos (89%) leva a produtos enantiomericamente enriquecidos. Alguns exemplos de moléculas quirais que são atualmente produzidos através da biocatálise são mostrados na figura 1.4.¹²

Figura 1.4 – Exemplos de compostos quirais produzidos em grande escala através da biocatálise.

1.1.4. Biocatálise na preparação de γ -butirolactonas quirais

A função lactona está presente numa grande variedade de produtos naturais e compostos biologicamente ativos e, frequentemente, a atividade biológica dessas lactonas depende da sua pureza óptica. Dentro da funcionalidade lactona, as butirolactonas γ -substituídas opticamente ativas constituem uma classe interessante,³⁶ sendo relatadas como componentes de aromas naturais³⁷ de chás e frutas,³⁸ feromônios de insetos^{39,40} e reguladores do crescimento de plantas³¹ (Figura 1.5). Além disso, o anel γ -butirolactônico enantiomericamente puro é um

sistema importante que permite a síntese estereocontrolada de muitas outras moléculas de interesse sintético.⁴¹

Figura 1.5 – Exemplos de algumas γ -butirolactonas naturais

Dentre os métodos enzimáticos mais utilizados na preparação enantiosseletiva de γ -butirolactonas quirais, destaca-se a oxidação assimétrica de Bayer-Villiger.^{42,43} De maneira geral, nos últimos 20 anos a abordagem biocatalítica desta reação vem apresentando resultados muito superiores aos métodos químicos convencionais.⁴⁴ Um bom exemplo é a oxidação microbiológica da biciclo[3.2.0]hept-2-en-6-ona (**1**) que leva à preparação de duas γ -butirolactonas em altos excesso enantioméricos.⁴⁴ Neste caso os dois enantiômeros do composto **1** são oxidados de forma específica, entretanto com diferente regioseletividade (Esquema 1.2). Além disso, o produto de oxidação não esperado (-)-**3** foi produzido exclusivamente e em alto rendimento químico quando a respectiva quiral (-)-**1** foi utilizada como substrato.⁴⁵

Esquema 1.2

A redução microbiana assimétrica de butenolidas substituídas⁴⁶ e do grupo cetona de γ -cetoácidos ou de γ -cetoésteres seguida de ciclização⁴⁷ também são alternativas interessantes na síntese de γ -butirolactonas enantiomericamente enriquecidas. Neste sentido, a redução utilizando-se *Saccharomyces cerevisiae* é a estratégia mais comum, pois frequentemente leva à produção das lactonas derivadas em altos excessos enantioméricos^{47e} (Esquema 1.3).

Esquema 1.3

A resolução cinética enzimática de γ -hidroxiésteres racêmicos,⁴⁸ dos respectivos álcoois precursores seguido de lactonização⁴⁹ ou mesmo a hidrólise enantiosseletiva de lactonas racêmicas⁵⁰ são estratégias também muito empregadas na preparação de γ -butirolactonas opticamente puras. Geralmente o processo enzimático envolve reações de esterificação, transesterificação ou hidrólise enantiosseletiva.⁵¹ Além disso, muitas vezes, o próprio sistema enzimático promove a enantiolactonização *in situ* dos intermediários.⁵² Quando os excessos enantioméricos não atingem o valor esperado, uma possibilidade é o uso de duas ou mais etapas enzimáticas na síntese. Esta é uma estratégia muito interessante, pois normalmente leva ao enriquecimento enantiomérico dos

produtos, como demonstrado na síntese enantiosseletiva do feromônio (*R*)-japonilure (Esquema 1.4).⁵³

Esquema 1.4

Embora as resoluções enzimáticas cinéticas sejam uma boa opção na preparação de γ -butirolactonas, este método falha ao permitir um rendimento teórico máximo de 50% para a reação. Por outro lado, o tratamento de γ -hidroxi-diésteres com lipases fornece estes compostos em alto rendimento químico e enantiomérico, já que o precursor é um composto pró-quiral e pode ser convertido totalmente a um enantiômero dos produtos.⁵⁴ Além disso, a manipulação de diferentes lipases pode levar à preparação preferencial tanto da (*R*) quanto da (*S*) γ -butirolactona (Esquema 1.5).

Esquema 1.5

1.2. BIOCATÁLISE NA PREPARAÇÃO DE AMBOS ENANTIÔMEROS DA FENILSELENO- γ -BUTIROLACTONA (12)

1.2.1. Justificativa, objetivos específicos e estratégia sintética

As reações de ciclização usando espécies eletrofílicas de selênio são uma excelente opção na síntese de lactonas, sendo que a primeira aplicação de haletos de fenilselenila em reações de lactonização interna foi descrita por Petragnani e Moura Campos em 1959.⁵⁵ Entretanto, um estudo sistemático desta reação, envolvendo posterior remoção oxidativa e redutiva do grupo organoselênio das lactonas formadas, foi publicada apenas 17 anos depois por Nicolau e Lysenko.⁵⁶ Desde então, uma série de espécies eletrofílicas de selênio têm sido empregadas em reações de lactonização, sendo que os reagentes mais frequentemente empregados são o cloreto e o brometo de fenilselenila (Esquema 1.6).

Esquema 1.6

Um recente avanço nesta área foi o desenvolvimento de uma variante assimétrica para esta reação, através do uso de eletrófilos de selênio quirais.⁵⁷ Não existem descritos na literatura, entretanto, estudos sobre a preparação de lactonas quirais que descrevam a capacidade catalítica das enzimas em substratos que contenham átomos de selênio. Sendo assim, o principal objetivo desta parte do trabalho foi realizar a síntese das (*R*) e (*S*)-fenilseleno- γ -butirolactonas a partir de enantiolactonizações catalisadas por lipases dos respectivos fenilseleno-hidroxiésteres. Desta forma planejou-se a realização de uma triagem de enzimas que teve por objetivo determinar o melhor sistema "lipase-solvente" para realizar esta transformação. A preparação do substrato 13 foi planejada através de duas rotas distintas: hidrólise da lactona

racêmica **12** em meio básico seguida de esterificação e via abertura de epóxidos com fenilselenolato de sódio (Esquema 1.7).

Esquema 1.7

A possibilidade de realizar a hidrólise enantiosseletiva do composto (*R,S*)-**12** também é proposta, pois neste caso seria possível comparar a eficiência dos dois métodos.

1.2.2. Resultados e discussão

1.2.2.1. Preparação do 4-hidroxi-5-fenilselanilpentanoato de propila (**13a**)

a) Rota 1

Pela rota 1 o composto **13** foi obtido em duas etapas reacionais, como mostrado no esquema abaixo (Esquema 1.8).

Esquema 1.8

A reação do ácido 4-pentenóico (**11**) com brometo de fenilselenenila em THF e trietilamina anidros levou a formação da 5-fenilseleniltetraidro-2-furanona (**12**) em bom rendimento. Esta reação ocorre na presença ou não de bases tais

como trietilamina, piridina ou K_2CO_3 . Porém, neste caso, o uso da trietilamina teve por finalidade remover o HBr formado. A etapa inicial do fechamento do anel é presumidamente a adição eletrofílica reversível do íon fenilselenônio à ligação dupla por um mecanismo 5-*exo*, que é o favorecido. Visando a preparação do 4-hidróxi-5-fenilselanilpentanoato de propila (**13a**), realizou-se a abertura da fenilselenolactona **12** extrapolando-se um procedimento descrito por Mori e colaboradores⁵⁸ para γ -butirolactonas. Inicialmente promoveu-se a hidrólise do anel lactônico utilizando-se KOH, sendo que o íon carboxilato formado foi esterificado mediante adição de brometo de propila em DMF.

b) Rota 2

Na busca de preparar o composto **13a** em melhor rendimento, testou-se uma outra rota sintética que envolveu uma abertura de epóxido com fenilselenolato de sódio como etapa chave. Através desta o composto **13a** foi obtido em 3 etapas reacionais também a partir do ácido 4-pentenóico (Esquema 1.9).

Esquema 1.9

O ácido pentenóico foi inicialmente transformado ao cloreto de ácido correspondente pela reação com cloreto de tionila e em seguida esterificado com *n*-propanol, levando ao composto **14** em bom rendimento. A reação de **14** com ácido *m*-cloroperbenzóico em diclorometano levou a formação do epóxido **15**. Para a abertura do epóxido, o selenolato de sódio foi gerado *in situ* pela redução de disseleneto de difenila com borohidreto de sódio em etanol seco. Frequentemente observou-se a formação da lactona derivada juntamente com o

produto, o qual pôde ser facilmente separado através de cromatografia em coluna, usando-se sílica neutralizada com trietilamina ou em placa preparativa. As tentativas de separação usando alumina neutra como fase estacionária não levaram a resultados satisfatórios. O monitoramento desta reação foi efetuado através de cromatografia em camada delgada (CCD) ou por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), e observou-se que quando a reação foi desenvolvida a temperatura ambiente, e em tempos superiores a dois minutos, o principal produto formado foi a selenolactona **12**. Posteriormente concluiu-se que a melhor condição para a abertura do epóxido seria realizar a reação em temperaturas mais baixas, em torno de $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, sendo que nestas condições foi possível controlar formação majoritária do fenilselenoester. Mesmo assim os rendimentos obtidos foram considerados apenas razoáveis, variando entre 50 e 60 %.

1.2.2.2. Preparação do 4-hidroxi-5-fenilselanilpentanoato de metila e de benzila (13b e 13c)

Com o intuito de investigar a influência do tipo de grupo éster nas reações enzimáticas, efetuou-se a preparação de dois compostos análogos ao composto **13a**. Baseados nos rendimentos globais obtidos na preparação do composto **13a** (rota 1 = 56 %, rota 2 = 33 %) optou-se por utilizar a rota 1 na preparação dos ésteres metílico **13b** e benzílico **13c**, através da reação do sal de potássio intermediário com iodeto de metila e brometo de benzila, respectivamente. Desta maneira ambos foram obtidos em bons rendimentos (Esquema 1.10).

Esquema 1.10

1.2.2.3. Resolução cinética enzimática dos fenilseleno-hidroxiésteres (13a-c)

O esquema 1.11 ilustra a etapa reacional onde foram empregadas enzimas isoladas (hidrolases) para efetuar a enantiociclização dos fenilseleno-hidroxiésteres **13a-c** usando solventes orgânicos. Os estudos que levaram a determinação da configuração absoluta dos centros estereogênicos serão discutidos adiante.

Esquema 1.11

A escolha das lipases utilizadas foi baseada na consulta aos manuais dos fornecedores de enzimas e a partir de dados da literatura especializada. É descrito na literatura²⁶ que solventes mais polares tendem a modificar mais as estruturas terciárias da enzimas, fato que impossibilita eleger determinado solvente como "ideal" para cada reação ou enzima. Com o intuito de descobrir a influência desta variável, cinco solventes diferentes foram testados: ciclohexano, hexano, éter etílico, tolueno e *t*-butil-metil-éter. O uso de solventes anidros teve por finalidade fixar a variável concentração de água no meio reacional, pois sabe-se que esta

tem bastante importância neste tipo de reação, influenciando inclusive a estrutura tridimensional da enzima.

Antes de realizar as reações enzimáticas, planejou-se uma forma de tratar os dados provenientes do “screening” enzimático. Em 1982 C. J. Sih, utilizando as bases descritas por Sharpless⁵⁹ e Fajans,⁶⁰ desenvolveu um parâmetro que descreve a seletividade de uma reação enzimática.⁶¹ O parâmetro E , conhecido como “Razão Enantiomérica” ou “Fator de Enantiosseletividade” descreve a dependência da conversão (c) e o excesso enantiomérico do substrato (ees) ou do produto (eep) em uma resolução cinética enzimática, como mostrado nas equações abaixo.

Para o produto:

$$E = \frac{\ln [1-c (1+ eep)]}{\ln [1-c (1- eep)]}$$

Para o substrato:

$$E = \frac{\ln [1-c (1+ ees)]}{\ln [1-c (1- ees)]}$$

Paralelamente, essas duas equações podem ser combinadas, para gerar o E da reação:

$$E = \frac{\ln \frac{[eep (1 - ees)]}{(eep + ees)}}{\ln \frac{[eep (1 + ees)]}{(eep + ees)}}$$

Para calcular o fator E nas reações tornou-se necessário determinar com exatidão os valores de conversão. Como as reações foram monitoradas por HPLC, a melhor forma encontrada para gerar resultados de conversão precisos foi através do uso de uma curva de calibração.⁶² A curva foi efetuada variando-se concentrações conhecidas da fenilselenolactona **12** e utilizando-se bifenil como padrão interno.

Com o intuito de encontrar o melhor sistema enzima/solvente que poderia efetuar essa transformação, fixou-se a quantidade de substrato/enzima em uma mesma concentração, em igual temperatura e frequência de agitação. Um dos grandes problemas destas reações reside na etapa de isolamento dos produtos. Com exceção da Novozyme 435, que é uma enzima imobilizada e pode ser

separada por uma filtração simples, as demais enzimas somente foram separadas depois de várias filtrações, o que frequentemente acarretou perdas. O uso da técnica de centrifugação foi então adaptada a esse procedimento e os resultados foram muito satisfatórios. Os resultados estão apresentados na tabela 1.2.

Tabela 1.2 -Resolução cinética enzimática dos fenilseleno-hidroxiésteres 13a-c

Item ¹	Enzima ²	R	Solvente	Tempo (h)	Conversão (%)	<i>R</i> -(-)-12 ee (%)	<i>E</i> ³
1	<i>Pseudomonas ps.</i>	Propila	Éter etílico	180	31	32	2.2
2	<i>M. miehei</i>	Propila	Éter etílico	14	47	43	3.6
3	<i>P. pâncreas</i>	Propila	Éter etílico	39	46	74	12
4	<i>C. rugosa</i>	Propila	Éter etílico	160	4	0	-
5	<i>C. antartica</i> , f. B	Propila	Éter etílico	160	11	22	1.6
6	Novozyme 435	Propila	Éter etílico	3	97	0	-
7	<i>P. pâncreas</i>	Propila	Hexano	50	40	61	6.1
8	<i>P. pâncreas</i>	Propila	Tolueno	42	42	70	9.3
9	<i>P. pâncreas</i>	Propila	Ciclohexano	40	47	68	9.6
10	<i>P. pâncreas</i>	Propila	^t BuME	40	50	64	8.6
11	<i>P. pâncreas</i>	Metila	Éter etílico	33	43	71	10
12	<i>P. pâncreas</i>	Metila	Ciclohexano	16	47	64	7.9
13	<i>P. pâncreas</i>	Benzila	Éter etílico	13	49	66	9.2
14	<i>P. pâncreas</i>	Benzila	Ciclohexano	14	50	64	8.6
15	<i>P. pâncreas</i>	Benzila	Hexano	15	43	64	7.8

¹Condições: 200 mg da enzima, 200 mg do substrato, 10 mL do solvente anidro, T = 30 °C; ²Fonte das enzimas: *Pseudomonas ps.*, *C. Rugosa*, *C. antartica* fração B, Novozyme 435, *M. miehei* (Novozyme), *P. pâncreas* (Aldrich); ³Valor de *E* calculado para o produto.

A mais eficiente combinação enzima/solvente foi determinada para o sistema Novozyme 435 (*Candida antarctica* lipase imobilizada) em éter etílico (Tabela 1.2, Item 6). Após 3 horas a 32 °C observou-se uma conversão de 97 %, entretanto, sem nenhum excesso enantiomérico. Em termos de enantiosseletividade, a melhor combinação enzima/solvente foi observada para o sistema PPL (lipase pancreática de porco)/éter etílico, onde a fenilselenolactona **12** foi gerada em 74 % de excesso enantiomérico partindo-se do substrato **13a** (Tabela 1.2, Item 3) Além disso, algumas enzimas tais como a *Pseudomonas ps.*,

Candida rugosa e a *Candida antarctica* fração B apresentaram elevados tempos de reação, gerando baixos excessos enantioméricos.

A avaliação do fator E na tabela 1.3 permitiu a elaboração de algumas conclusões interessantes: Os maiores valores foram encontrados também para o sistema PPL/éter etílico e, por exemplo, observou-se que não existe muita diferença entre os valores desta constante entre os diferentes substratos **13a**, **13b** e **13c** (Itens 3, 11 e 13). Sabe-se que o tamanho de um substrato ou do substituinte pode ser decisivo durante a ação enzimática.²⁶ Isso ocorre porque a presença de um grupo volumoso pode, por exemplo, impedir a aproximação enzima-substrato de maneira favorável à formação do complexo intermediário $[ES]^\ddagger$, fundamental para que a ação catalítica ocorra de forma efetiva (Figura 1.6).

Figura 1.6 - Possível complexo enzima-substrato para o composto **13**

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que não existe relação significativa entre a ação das enzimas testadas e a presença dos grupos metila, propila e benzila no composto **13**.

1.2.2.4. Ciclização dos (S)-fenilseleno-hidroxiésteres (**13a-c**)

As tentativas de ciclização dos (S)-fenilseleno-hidroxiésteres **13**, obtidos na resolução cinética, pelo uso de ácido *p*-toluenosulfônico catalítico geraram apenas a lactona racêmica. Este resultado pode ser racionalizado considerando-se a formação de um carbocátion de selênio estabilizado durante a reação,⁶³ conforme ilustra o esquema 1.12.

Esquema 1.12

Tendo em vista a alta reatividade da Novozyme 435, que não discrimina os isômeros de **13**, optou-se por utilizar esta enzima para efetuar a ciclização de todos os (S)-fenilseleno-hidroxiésteres enantioméricamente enriquecidos obtidos durante a resolução cinética. Nessas condições, a (S)-fenilselenolactona **12** foi obtida em bons rendimentos e com um excesso enantiomérico máximo de 64 % (Esquema 1.13).

Esquema 1.13

1.2.2.5. Determinação dos ee das (R) e (S)-fenilselenolactonas

Estudos anteriores realizados no laboratório⁶⁴ demonstraram que os enantiômeros das selenolactonas não são facilmente separados através dos métodos de separação enantioméricos tradicionais. O uso de colunas α , β e γ -

ciclodextrina (Supelco®) em cromatografia gasosa e HPLC com fase quiral fenilmetil uréia⁶⁵ não discriminaram os enantiômeros. O uso de agentes quirais de deslocamento químico derivados de (+)-Eu(hfc)₃ (hexafluorcanforato de európio) e análise por RMN ¹H, bem por RMN ⁷⁷Se usando-se outros agentes deslocamento químico quirais como (1*R*, 2*S*, 5*R*)-mentol ou (1*R*)-(-)-10-ácido canforsulfônico, que são frequentemente empregados, também não discriminaram os enantiômeros. Com a aquisição de uma nova coluna de β-ciclodextrina (Crompack) novos estudos foram iniciados no sentido de separar os enantiômeros da fenilselenolactona **12** através de cromatografia gasosa. Algumas variáveis, tal como substituição do N₂ por H₂ como gás de arraste, entre outras, foram alvo de investigações, entretanto os resultados se mostraram insatisfatórios.

Na tentativa de resolver o problema, optou-se por retirar o grupo fenilselênio da molécula através de uma clivagem redutiva com *n*-Bu₃SnH,⁶⁶ que leva a formação da γ-valerolactona (**16**), um conhecido intermediário na síntese de produtos naturais⁶⁷ e muito usado em estudos biossintéticos (Esquema 1.14).⁶⁸

Esquema 1.14

A redução ocorre com ou sem o uso do iniciador radicalar, entretanto na presença deste observou-se que o tempo de reação foi drasticamente reduzido. Essa alternativa mostrou-se muito interessante pois durante a clivagem radicalar o centro estereogênico não sofre racemização,⁶⁹ e a γ-valerolactona pode ser facilmente analisada em cromatografia gasosa de fase quiral. Na Figura 1.7 são apresentados os cromatogramas obtidos para a γ-valerolactona racêmica e resolvida enzimaticamente, no caso com 74 % de excesso enantiomérico.

Figura 1.7 - Cromatogramas da γ -valerolactona racêmica e enriquecida enantiomericamente (74% de ee)

Embora a redução das selenolactonas **13** tenha permitido a determinação de todos os excessos enantioméricos obtidos nas reações enzimáticas, outros estudos foram efetuados no sentido de separar os enantiômeros da selenolactona em questão através de métodos cromatográficos. Dentre os vários métodos de separação enantiomérica conhecidos, destaca-se a cromatografia líquida de alta eficiência com fase estacionária quiral. Embora as tentativas iniciais de separação do composto **12** não tenham apresentado os resultados esperados, sabe-se que esta técnica permite a separação enantiomérica tanto analítica quanto em escala preparativa de uma grande variedade de compostos quirais.⁷⁰ Através de um projeto de colaboração que envolveu nosso grupo de pesquisa e o grupo da professora Quezia B. Cass da Universidade Federal de São Carlos, novas colunas quirais para HPLC foram disponibilizadas. Estudos utilizando-se de uma coluna de tris-(3,5-dimetilfenilcarbamato), preparada por Cass e colaboradores,⁷¹ finalmente permitiram a resolução dos enantiômeros fenilselenolactona **12**, como mostrado no cromatograma abaixo (Figura 1.8).

Figura 1.8 - Resolução da fenilseleno- γ -butirolactona 12 em HPLC de fase quiral

1.2.2.6. Determinação da configuração absoluta da fenilselenolactona (12)

Embora o objetivo inicial de determinar os excessos enantioméricos das reações tenha sido alcançado, encontramos bastante dificuldade na purificação da γ -valerolactona, sendo esta necessária para as subseqüentes análises polarimétricas que visavam à determinação da configuração absoluta das selenolactonas. As dificuldades encontradas na remoção das espécies de estanho formadas nestas reações radiculares são bem descritas na literatura,⁷² sendo que o principal problema decorre da necessidade frequente da utilização de excesso do reagente de estanho, que sofre decomposição com o aquecimento gerando vários subprodutos.⁷³

Nas tentativas iniciais de purificação da γ -valerolactona, foram utilizados os procedimentos usuais, tais como cromatografia em coluna flash⁷⁴ e destilação. Embora tenham sido testados diferentes sistemas de solventes e vários gradientes, não foi possível a separação cromatográfica do produto. Na literatura alguns autores sugerem que se percole inicialmente hexano ou pentano para separar as espécies de estanho; entretanto, neste caso, as impurezas

mantiveram-se com o produto. A destilação é um método muito utilizado na purificação desta lactona, mas mesmo sendo muito volátil, este método mostrou-se ineficiente. A adição de KF em etanol com o objetivo de gerar-se espécies fluoradas de estanho poderiam facilitar a retirada dos contaminantes, entretanto esse método também não apresentou bons resultados.

Outro método testado foi a extração ácido-base do composto. A lactona foi inicialmente hidrolisada em meio básico e em seguida a fase aquosa foi extraída várias vezes com hexano. Posteriormente a fase aquosa foi acidificada e a lactona extraída livre de impurezas em éter etílico, entretanto em baixo rendimento (33%). A metodologia mais eficiente foi a extração das impurezas usando um sistema bifásico de solventes orgânicos, no caso, acetonitrila e hexano.⁷⁵ Após sucessivas lavagens com hexano observou-se o produto livre de impurezas dissolvido em acetonitrila que foi, em seguida, isolado em 61% de rendimento.

Embora o objetivo de purificar a γ -valerolactona tenha sido alcançado, cabe registrar que a literatura apresenta várias outras possíveis soluções para resolver este tipo de problema e que neste trabalho não foram testadas, como por exemplo, o uso de quantidades catalíticas de hidreto de triálquil estanho ou de seu precursor em conjunto com quantidades estequiométricas de outro hidreto (por exemplo NaBH_4),⁷⁶ aplicação de estananas modificadas,⁷⁷ sólido-suportadas,⁷⁸ entre outras.

Nas medidas polarimétricas observou-se $[\alpha]_D^{20} = -26,7$ para a γ -valerolactona com 74% de ee. De acordo com a literatura,⁷⁹ o valor $[\alpha]_D^{20} = -29,6$ foi observado para a (S)- γ -valerolactona **16** enantiomericamente pura. Como existe uma alteração na prioridade dos grupos quando comparamos com a fenilselenolactona **12**, é possível concluir que a enantiolactonização com PPL gera a (R)-fenilseleno- γ -butirolactona, enquanto a ciclização mediada por Novozyme 435 fornece o enantiômero de configuração (S).

1.2.2.7. Hidrólise enantiosseletiva de fenilselenolactonas

a) Usando Enzimas Isoladas

Como comentado anteriormente, sabe-se que lipases são capazes de promover hidrólises de forma estereoespecífica, sendo que essa estratégia também vem sendo aplicada na síntese de lactonas quirais. Algumas leis empíricas sobre a enantiosseletividade enzimática, baseadas em características comuns dos substratos que apresentaram bons resultados, vem sendo propostas.⁸⁰ Por exemplo, a velocidade de hidrólise de ésteres de álcoois secundários quirais, por uma variedade de lipases e esterases, ocorre mais rapidamente quando o enantiômero do álcool secundário possui um grupo grande ligado a sua direita e um médio a sua esquerda (Figura 1.9).

Figura 1.9- Representação de uma lei empírica sobre a velocidade de reação enzimática com álcoois secundários

Um exemplo da aplicação desta regra é apresentado no esquema 1.15. Neste caso, a hidrólise de uma mistura racêmica de pentanoato de mentila levou ao (1*R*, 2*S*, 5*R*)-mentol em altos excessos enantioméricos.⁸¹

Esquema 1.15

Na tentativa de obter-se melhores excessos enantioméricos para as fenilselenolactonas através de métodos biocatalíticos, decidiu-se investigar a

hidrólise enzimática do substrato racêmico **12**, como mostrado no esquema abaixo (Esquema 1.16).

Esquema 1.16

Quando se pretende realizar um estudo como este, a seleção das enzimas a serem utilizadas é usualmente feita através de reações em pequena escala, seguidas de extração dos produtos e de análises cromatográficas e espectroscópicas. Essas operações tornam o trabalho difícil, sendo exatamente o que foi feito na primeira parte deste trabalho, durante a preparação estereosseletiva da (S)- e (R)-fenilselenolactona **12**. O problema pode ser maior quando se pretende utilizar hidrolases, onde cerca de 100 tipos diferentes de enzimas são disponíveis comercialmente.

Antes de saber se uma enzima é estereosseletiva frente a um substrato é necessário determinar se esta é, pelo menos, capaz de catalisar uma transformação química no substrato. A necessidade de uma metodologia que leva-se a essas respostas de maneira rápida levou ao desenvolvimento de métodos de triagem baseados em ensaios colorimétricos.⁸² Dessa forma, foi realizado uma triagem colorimétrica em microplacas para verificar qual das enzimas poderia promover a hidrólise da fenilselenolactona **12**. Para tal, foram utilizadas tanto as lipases quanto as esterases disponíveis no laboratório (Tabela 1.3).

Tabela 1.3 - Enzimas utilizadas no screening colorimétrico da fenilselenolactona.

	Enzimas / Fonte		Enzimas / Fonte
E1	Lipase <i>PS</i> (Amano)	E8	Chirazyme L-7 (Novozyme)
E2	Chirazyme E-1 (Novozyme)	E9	Chirazyme L-8 (Novozyme)
E3	Chirazyme E-2 (Novozyme)	E10	Chirazyme L-5 (Novozyme)
E4	Esterase- pig liver (Aldrich)	E11	Chirazyme L-6 (Novozyme)
E5	Lípase <i>Pseudomonas f.</i> (Aldrich)	E12	Lipase <i>Cândida rugosa</i> (Aldrich)
E6	Chirazyme L-2 (Novozyme)	E13	PPL (Aldrich).
E7	Chirazyme L-3 (Novozyme)		

A metodologia empregada nesta triagem baseou-se na mudança de coloração do indicador azul de bromotimol presente no meio reacional, devido a formação do ácido carboxílico **17** (Esquema 1.16). Uma das grandes vantagens desta técnica reside na economia dos substratos. Para as reações com todas as 13 enzimas apresentadas na tabela 1.3 foi necessário apenas 20 mg da fenilselenolactona. As reações foram sempre efetuadas em duplicata, na presença de um controle, onde foram misturados apenas a enzima e o indicador já que a própria enzima pode, em alguns casos, promover a alteração da coloração. Neste caso os resultados são descartados. Na figura 1.10 estão apresentados os resultados obtidos na triagem, após 48 horas de repouso em estufa a 40 °C.

Figura 1.10 – Triagem colorimétrica de hidrólise da fenilselenolactona 12

Foi observada mudança de coloração para o amarelo nos poços relativos às enzimas E2, E3, no caso as esterases Chirazyme E1 e E2; ligeiramente amarelo para E5 e E11, que se referem às lipases da *Pseudomonas fluorescens* e *Pseudomonas sp.* O próximo objetivo deste trabalho será determinar se as enzimas que promoveram a hidrólise da fenilselenolactona 12 o fizeram de maneira enantiosseletiva. Novos avanços nesta área têm apontado para a possibilidade de se determinar a configuração absoluta de substratos a partir de métodos colorimétricos.⁸² Essas novas tecnologias, embora ainda com tímida aplicação, vêm ganhando importância crescente no campo da biocatálise.

b) Usando bactérias

Paralelamente aos estudos de hidrólise com enzimas isoladas, foram efetuados também testes preliminares onde se usaram bactérias nas transformações do substrato 12. Esse trabalho, efetuado no Instituto de Biologia da Universidade de São Paulo (USP), foi um dos diversos esforços que tiveram por objetivo instalar o uso de culturas de bactérias em transformações químicas no laboratório de Química Fina e Biocatálise da USP. Atualmente, o grupo domina as diversas técnicas de manipulação tanto de fungos quanto de bactérias, e estes

vêm sendo aplicados com sucesso na síntese enantiosseletiva de vários intermediários sintéticos.

As reações preliminares da hidrólise da fenilselenolactona **12** foram realizadas com as seguintes bactérias: *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13305 e *Acinetobacter sp* 69V. A metodologia consistiu no crescimento de uma colônia da bactéria em um meio de Triptona de Soja, que é rico em nutrientes. Em seguida foi efetuado o crescimento da bactéria na presença de um meio de cultura deficiente em carbono e estudou-se a indução na produção de lactonases através da exposição destas a fenilselenolactona **12**. Depois, as bactérias foram testadas na hidrólise da fenilselenolactona em meio tamponado. As reações foram monitoradas por HPLC e os resultados indicaram que a reação de hidrólise com *Acinetobacter sp* 69V consumiu cerca de 70% do substrato após um período de 48 horas de reação. No caso da *Pseudomonas fluorescens*, a indução não foi observada, sendo que as análises indicaram apenas a presença do material de partida. Embora os excessos enantioméricos dos produtos obtidos não tenham sido determinados, têm-se a perspectiva de utilização dos resultados obtidos em estudos futuros.

1.3. SÍNTESE ENANTIOSSELETIVA DA (R)- γ -JASMOLACTONA

1.3.1. Justificativa, objetivos específicos e estratégia sintética

Como já comentado na introdução desta tese, o esqueleto γ -butirolactônico está presente num grande número de produtos naturais biologicamente ativos. Entre os compostos que possuem o esqueleto γ -butirolactônico em sua estrutura encontra-se a γ -jasmolactona (Z-7-decen-4-olida) (21), muito conhecida na perfumaria, juntamente com a jasmona e o metil jasmonato, como um dos principais responsáveis pelo odor observado no óleo essencial das flores de jasmim. Ainda, a γ -jasmolactona é encontrada em proporção de 0,0001 % em peso no óleo essencial de *Mentha piperita* L.,⁸³ um dos principais agentes aromatizantes comerciais dos EUA. Em uma patente de aplicação, as propriedades organolépticas da γ -jasmolactona foram descritas como frutal, floral, verde, cremosa e doce estando associada ao aroma de pêssegos e frutas tropicais.⁸⁴ Sendo assim, este composto encontra vasta aplicação como aromatizante, pois pode intensificar o odor de frutas em alimentos e bebidas.⁸⁵

Em sua forma racêmica, a γ -jasmolactona pode ser preparada através de vários métodos descritos na literatura,⁸⁶ muitos dos quais protegidos por patentes.⁸⁷ Entretanto, as propostas de síntese enantiosseletiva deste composto são bem mais limitadas. Recentemente Comasseto e Missio⁸⁸ descreveram uma síntese enantiosseletiva da (S)- γ -jasmolactona, que foi obtida em 87% de excesso enantiomérico, através de uma enantiolactonização catalisada por enzimas na etapa chave (Esquema 1.17).

Esquema 1.17

Uma patente internacional⁸⁹ relata que o aroma da (*R*)-(+)- γ -Jasmolactona é mais intenso e sua nota floral é mais doce que aquela conferida pelo seu antípoda (-)-(*S*)-**21**. A mesma patente estabelece que, como regra geral, o aromas dos enantiômeros (+) de todas as γ -lactonas investigadas naquela patente são mais intensos e exibem uma nota floral doce mais forte do que seus antípodas (-). Ainda neste trabalho, a síntese da (*R*)- γ -jasmolactona, que já havia sido produzida em baixo rendimento a partir do ácido linoléico,⁹⁰ foi efetuada através de uma resolução cinética enzimática de seu racemato (*R/S*), com um modesto rendimento de 28 %, e um excesso enantiomérico máximo de 60 %.

Devido a este fato, planejou-se a síntese da (*R*)- γ -jasmolactona utilizando-se o mesmo intermediário quiral usado na preparação de (*S*)-**21**, na expectativa de obter resultados melhores que os descritos na literatura. A estratégia sintética planejada previu a preparação do lactol (*R*)-**22** e uma inversão de configuração durante a reação de Wittig, como mostrado no esquema 1.18.

Esquema 1.18

1.3.2. Resultados e discussão

1.3.2.1. Preparação do 4-hidroxieptanoato de dibenzila 18

Os estudos iniciais envolveram a preparação do substrato 18, o qual foi obtido a partir do ácido 4-cetopimérico (23) utilizando-se os procedimentos originais descritos por Comasseto e Missio,⁸⁸ como mostrado no esquema 1.19.

Esquema 1.19

Foi possível reproduzir com sucesso os rendimentos de ambas as reações. Alternativamente, os ésteres do ácido 4-cetopimérico podem ser produzidos a partir do furfural.⁹¹

1.3.2.2. Preparação do (*R*)-3-(5-oxotetraidro-2-furanil)-propanoato de benzila (19)

Nos estudos visando a enantioselectivação enzimática do hidroxidiéster **18**, novamente se optou por utilizar as condições usadas por Comasseto e Missio durante a síntese da (*S*)- γ -jasmolactona. O substrato foi dissolvido em éter seco e agitado na presença de PPL, levando à formação da lactona (*R*)-(-)-**19**. Inicialmente, dados provenientes da literatura,^{55,92} baseados em análises polarimétricas, levaram Gutman e colaboradores atribuir a configuração (*S*) para o composto (-)-**19**. De acordo com as normas de nomenclatura,⁹³ entretanto, o composto (-)-**19** possui a configuração (*R*). Além disso, observou-se que a reação enzimática é concluída em apenas 12 h, e que leva ao produto quiral com 92 % de excesso enantiomérico (Esquema 1.20).

Esquema 1.20

Embora os mecanismos de enantiociclicização enzimática de hidroxidiésteres como **18** não sejam totalmente esclarecidos, supõe-se que os sítios ativos da enzima coordenem-se com os grupamentos funcionais do substrato e promovam enantiosseletivamente a hidrólise de apenas um dos grupos éster ao ácido derivado. Após a dessimetrização o composto quiral é ciclizado, levando a lactona opticamente enriquecida (Figura 1.11).

Figura 1.11 – Possível complexo formado entre a enzima PPL e o substrato 18

Todas tentativas de determinação do excesso enantiomérico utilizando-se cromatografia gasosa de fase quiral fracassaram. Entretanto, o uso da técnica de HPLC quiral usando-se uma coluna de tris [(S)-1-feniletilcarbamato] amilose possibilitou a resolução dos enantiômeros do composto **19**.

1.3.2.3. Preparação do (*R*)-3-(5-hidroxi-tetraidro-2-furanil)-propanoato de benzila (**22**)

Nesta etapa do trabalho investigou-se a possibilidade de efetuar-se a redução da lactona **19** ao lactol correspondente. Está descrito na literatura⁹⁴ que a redução de ésteres e lactonas para aldeídos, na prática, é uma reação muito difícil de ser realizada, principalmente quando o éster é alifático. Neste caso, o problema residiu no fato de que seria necessário promover uma redução seletiva de um éster cíclico (lactona) na presença do éster benzílico.

Para efetuar essa reação de forma controlada, seguiu-se um procedimento descrito por Yoshikoshi e colaboradores,⁹⁵ e efetuou-se a reação em THF a -78°C . Nestas condições o lactol (*R*)-**22** foi obtido, como mostrado no esquema 1.21.

Esquema 1.21

Embora o composto desejado tenha sido obtido, os rendimentos foram inicialmente muito baixos (na ordem de 30 %). As reações foram normalmente controladas por cromatografia em camada delgada, sendo que o consumo total do material de partida foi usualmente observado após 3 horas, com conseqüente formação de apenas um novo produto. Desta forma, concluiu-se que os baixos rendimentos poderiam estar relacionados à etapa de extração do produto. Quando o meio reacional foi tratado com H_2O ou mesmo com solução saturada de NH_4Cl observou-se a formação de uma emulsão que era difícil de ser desfeita. A formação desta emulsão é característica na etapa de isolamento de reações com hidretos de alumínio e leva a redução nos rendimentos devido ao fato de reter parte do produto. A opção encontrada para resolver o problema foi tratar a mistura reacional com uma solução do sal de Rochelle, nome com que é conhecido o tartarato de sódio e potássio. Esse composto provavelmente compete com o lactol pela ligação com o alumínio. O procedimento ideal foi, ao final da reação, diluir a mistura reacional com acetato de etila e em seguida adicionar uma solução saturada do sal de Rochelle. Após a adição deste sal, a solução foi mantida sob forte agitação até que as fases aquosa e orgânica estivessem perfeitamente separadas. Algumas vezes foram necessárias 4 horas de agitação. O uso dessa solução na extração elevou o rendimento da reação para 71 %, sendo que o produto foi purificado em coluna cromatográfica.

Verificou-se que o composto (*R*)-22 é relativamente instável, sendo que não foi possível alcançar valores aceitáveis nas análises elementares (CHN). Como este existe em um equilíbrio entre o hemiacetal e o correspondente aldeído, traços de ácido, ou mesmo o calor facilitam a decomposição do lactol através da formação do composto (*S*)-20, como mostrado no esquema 1.22.

Esquema 1.22

Devido à sua baixa estabilidade, o lactol (*R*)-22 não pôde ser armazenado por longos períodos, sendo usualmente preparado e purificado logo antes de sua utilização na próxima etapa sintética.

1.3.2.4. Síntese da (*R*)- γ -jasmolactona

Com o intuito de concluir a síntese da (*R*)- γ -Jasmolactona planejou-se a execução de uma reação de Wittig com propilidenotrifetilfosforana. A reação de Wittig é quimiosseletiva, regioespecífica e encontra aplicações tanto em laboratório de pesquisas quanto em processos industriais.⁹⁶ Esta pode também ser estereosseletiva, onde a ilida reage com o aldeído para gerar apenas um isômero predominante (*Z*) ou (*E*).

Na literatura já é bem estabelecido que a estereosseletividade da olefinação de Wittig é influenciada pela natureza do sal de fosfônio, do aldeído, da base, do solvente, da concentração e da presença de cátions. Especificamente, na presente reação, onde o sal de fosfônio 25 e o lactol 22 são alifáticos, a ilida formada não é estabilizada e o intermediário *syn*-oxofosfetano leva ao composto com configuração predominante (*Z*). No primeiro teste utilizou-se *n*-BuLi para gerar a propilidenotrifetilfosforana, que apresentou uma intensa coloração avermelhada. Após a adição do lactol (*R*)-22, a (*R*)- γ -jasmolactona foi obtida em 55 % de rendimento, como mostrado no esquema 1.23.

Esquema 1.23

Como observado foram utilizados 2 equivalentes da ilida para 1 equivalente do lactol. O primeiro equivalente da fosforana provavelmente promove a abertura do anel lactônico através da abstração do H do lactol, levando ao aldeído intermediário. Em seguida o segundo equivalente da propilidenotrifetilfosforana reage com o aldeído gerando a olefina. O alcóxido formado no carbono C-4 ataca o éster benzílico promovendo uma transesterificação que leva à formação do anel lactônico do composto (R)-21, como mostrado no esquema 1.24.

Esquema 1.24

Com base num procedimento descrito por Tumlinson,⁹⁷ sílica gel foi dopada com nitrato de prata e os isômeros (E) e (Z) foram separados em coluna cromatográfica. O composto 21 foi caracterizado principalmente por RMN ¹H, onde se observou um duplo duplo duplo dubleto em δ 4,50 ppm, com as seguintes constantes de acoplamento: $J = 8,12; 7,76; 6,65$ e $5,17$ Hz, referentes ao hidrogênio carbinólico da γ -jasmolactona. Ainda no espectro de RMN ¹H, observaram-se dois duplo triplo tripletos, um em δ 5,31 e outro em δ 5,43 ppm com as seguintes constantes de acoplamento: $J = 10,75; 7,29$ e $1,54$ Hz, atribuídos aos hidrogênios olefínicos, e que caracterizaram a geometria (Z) da dupla ligação do produto majoritário (Figura 1.12).

Esquema 1.25

O excesso enantiomérico da (*R*)- γ -Jasmolactona (92%) foi determinado por cromatografia gasosa em fase quiral usando-se uma coluna CHIRASIL-DEX (CROMPACK) (Figura 1.13).

Figura 1.13 – Cromatograma em fase quiral da (*R*)- γ -jasmolactona 21

Nas análises polarimétricas a rotação específica do composto (*R*)-**21** foi de +39,07, cujo desvio da luz polarizada foi diferente àquela anteriormente obtida para o seu enantiômero (*S*)-**21**, que foi de -22,35.⁸⁸ Esse resultado levou-nos a atribuir a configuração (*R*) ao centro estereogênico do γ -jasmolactona obtida.

1.4. SÍNTESE ENANTIOSSELETIVA DA (S)- γ -JASMOLACTONA

1.4.1. Justificativa, objetivos específicos e estratégia sintética

Embora a comparação dos dados polarimétricos tenha confirmado a síntese da γ -jasmolactona de configuração (*R*), observou-se que os valores de rotação específica entre os dois enantiômeros eram bastante discrepantes. Na busca por dados na literatura, foram encontrados valores coerentes para o observado na (*R*)- γ -jasmolactona. Com o objetivo de confirmar a veracidade destas informações decidiu-se repetir a síntese do composto (*S*)-**21**. Para tal, partindo-se do composto (*R*)-**19**, optou-se por reproduzir a rota original publicada por Comasseto e Missio na preparação do aldeído quiral (*S*)-**20**. Além do fato de que a (*S*)- γ -jasmolactona poderia ser obtida em um maior excesso enantiomérico que o valor anteriormente publicado, esta seria também uma boa oportunidade para aplicar-se o sistema DMSO/NaH na reação de Wittig final, no qual tanto o controle da geometria da dupla ligação, como o rendimento químico final, poderiam ser otimizados.

1.4.2. Resultados e discussão

1.4.2.1 Preparação do (*S*)-3-(5-oxotetraidro-2-furanil)-propanal (**20**)

Partindo-se do éster benzílico (*R*)-**19**, inicialmente efetuou-se a síntese do aldeído quiral (*S*)-**20** em três etapas reacionais, conforme mostrado no esquema 1.26.

Esquema 1.26

A rota partiu de uma reação de hidrogenólise,¹⁰⁰ que é um procedimento muito comum para desproteção de ésteres benzílicos. Na redução quimiosseletiva do ácido carboxílico (S)-26 ao álcool correspondente utilizou-se o complexo borana-dimetilsulfeto em THF.¹⁰¹ Experimentalmente, constatou-se que a utilização do complexo BH₃·SMe₂ em concentrações de 1 ou 2 mol/L leva à formação de muitos subprodutos, o mesmo não acontecendo quando se utiliza concentrações superiores a 5 mol/L. Desta forma, usando-se o complexo BH₃·SMe₂ 10 mol/L à temperatura ambiente e em duas horas de reação, obteve-se o álcool (S)-27 em bom rendimento e com alta pureza. A oxidação deste intermediário usando-se o complexo Piridina-Cloro-Cromato (PCC) em CH₂Cl₂ levou à formação do aldeído desejado, também em alto rendimento (Esquema 1.26).

1.4.2.2. Síntese da (S)-γ-jasmolactona

A reação de Wittig visando à síntese da (S)-γ-jasmolactona foi realizada nas mesmas condições em que se efetuou a síntese do isômero (R), entretanto, preparou-se apenas um equivalente da ilida (Esquema 1.27).

Esquema 1.27

Desta forma a (S)- γ -Jasmolactona foi obtida em bom rendimento e na mesma proporção *E*:*Z* observada para o enantiômero (*R*), demonstrando que esta estratégia levou a melhores resultados quando comparados com o valores inicialmente reportados.⁸⁸ Como partiu-se do mesmo precursor quiral utilizado na síntese do isômero (*R*), chegou-se ao produto final desta rota com 92 % de excesso enantiomérico, que é um valor 5% superior ao originalmente publicado (Figura 1.14).

Figura 1.14 – Cromatograma em fase quiral da (S)- γ -jasmolactona 21

Como esperado, as análises polarimétricas do composto (S)-**21** indicaram um valor diferente do publicado. O valor determinado foi $-39,63$, estando de acordo com o valor observado para o enantiômero (*R*), $(+39,07)$. Felizmente, esse pequeno erro foi reparado.¹⁰²

1.5. SÍNTESE ENANTIOSSELETIVA DA (R) E DA (S)-(Z)-7,15-HEXADECADIEN-4-OLIDA (28), FEROMÔNIO SEXUAL DA YELLOWISH ELONGATE CHAFER, *Heptophylla picea*

1.5.1. Justificativa, objetivos específicos e estratégia sintética

Por definição, feromônios são substâncias que são secretadas por um indivíduo para o exterior e recebidas por um segundo indivíduo, da mesma espécie, sendo que esta provoca uma reação específica ou um processo de desenvolvimento fisiológico definido.¹⁰³ Em resumo, feromônios são moléculas que agem na comunicação dos indivíduos de uma mesma espécie para provocar respostas comportamentais, sendo que podem ser de alarme, agregação, alimentação entre outros.¹⁰³

Entre as diversas classes de feromônios, destacam-se os feromônios sexuais, que são substâncias emitidas pelo indivíduo (macho ou fêmea) de uma espécie em particular para atrair o companheiro do sexo oposto, visando o acasalamento.¹⁰⁴ É conhecido que os insetos são os maiores competidores por alimentos produzidos pelo homem, e uma das maneiras de se combater ou mesmo monitorar a atividade destes é através do uso de feromônios. Neste sentido, a quiralidade de uma substância pode ser determinante. Sabe-se que em alguns casos, apenas 1% do enantiômero oposto ao biologicamente ativo pode reduzir drasticamente sua atividade biológica.¹⁰⁵

Em 1996, Leal e colaboradores¹⁰⁶ isolaram e identificaram a (4*R*,7*Z*)-7,15-hexadecadien-4-olida (28) como o feromônio sexual produzido pelas fêmeas da Yellowish Elongate Chafer (*Heptophylla picea*), que é uma peste da agricultura e causa perdas na produção de chás e flores no Japão (Figura 1.15).

Figura 1.15 – Feromônio sexual de Yellowish Elongate Chafer, *Heptophylla picea*.

Com o intuito de se confirmar a estrutura deste feromônio, o composto **28** foi sintetizado por Kuwahara e colaboradores¹⁰⁷ em 14 etapas reacionais partindo-se do ácido L-málico, sendo que o composto apresentou dados espectroscópicos idênticos aos do produto natural. Adicionalmente, Mori e Nakayama prepararam ambos os enantiômeros desta lactona através da resolução enzimática da mistura racêmica de **28**. Embora tenham obtido sucesso, pois os produtos foram obtidos em altos excessos enantioméricos (~95% ee), foi necessário o uso de diferentes tipos de enzimas além de mais do que uma etapa enzimática.⁵⁸

Visando ampliar a metodologia que promoveu a síntese da (*R*) e da (*S*)- γ -jasmolactona a outras γ -butirolactonas bioativas, a síntese de ambos os enantiômeros da (*Z*)-7,15-hexadecadien-4-olida foi proposta, como mostrado no esquema retrosintético abaixo (Esquema 1.28).

Esquema 1.28

Através desta rota seria possível aproveitar os mesmos intermediários sintéticos (*R*)-**20** e (*S*)-**22** utilizados na síntese da (*R*) e da (*S*)- γ -jasmolactona,

respectivamente. Desta forma, os estudos iniciais foram realizados no sentido de preparar o sal de fosfônio 36.

1.5.2. Resultados e discussão

1.5.2.1. Preparação do brometo de alil magnésio (30)

É conhecido na literatura que os reagentes de *Grignard* alílicos não são facilmente preparados.¹⁰⁸ De fato, existem conflitos na literatura com respeito às condições ideais de preparação destes reagentes. Essas discussões residem na tentativa de evitar a reação do reagente de *Grignard*, durante sua formação, com o próprio haleto de origem. Esse acoplamento, conhecido como acoplamento de *Wurtz*, muitas vezes acaba levando a uma drástica diminuição na concentração final do produto.

Nas primeiras tentativas utilizou-se um procedimento descrito por Lipshutz e colaboradores,¹⁰⁹ em que inicialmente parte do brometo de alila é adicionado sobre excesso de Magnésio em THF a 0 °C. A seguir, a temperatura é reduzida a -15 °C e o brometo de alila residual é adicionado gota a gota, durante 2 horas. Nestas condições, o brometo de alil magnésio foi obtido em uma concentração de 0,26 mol/L. Na busca por um método mais eficiente, seguiu-se a metodologia descrita por Chudd e colaboradores,¹¹⁰ onde a adição do brometo é efetuada no período de 8 horas. A reação foi efetuada em éter etílico e gerou o reagente de *Grignard* em boa concentração (Esquema 1.29).

Esquema 1.29

O reagente 30 foi mantido refrigerado e mostrou boa estabilidade. Após dois meses armazenado, este não mostrou variação significativa em sua concentração.

1.5.2.2. Preparação do 6-bromo-1-hexanol (32)

Embora esse composto seja comercial, optou-se por realizar sua preparação no laboratório partindo-se do 1,6-hexanodiol, como mostrado no esquema 1.30.

Esquema 1.30

O produto foi obtido em bom rendimento, sendo que pouco produto de dibromação foi observado. O composto **32** foi purificado através de destilação sob pressão reduzida.

1.5.2.3. Preparação do iodeto de trifenil-(8-nonenil)-fosfônio (36)

O sal de fosfônio **36** foi preparado em quatro etapas reacionais partindo-se do 6-bromo-hexanol **32**, como mostrado no esquema 1.31.

Esquema 1.31

Inicialmente o 6-bromo-1-hexanol **32** foi tratado com 2.1 equivalentes do brometo de alil magnésio **30** na presença de tetraclorocuprato de lítio¹¹¹ em THF. Após alguns ajustes nas condições reacionais, o 8-nonenol foi obtido em bom

rendimento. Nesta reação o tetraclorocuprato de lítio promove a formação do cuprato alílico, sendo que é esta a espécie que promove o deslocamento do haleto. Quando se utilizaram dois equivalentes do reagente de *Grignard* economizou-se uma etapa de proteção e outra de desproteção do grupo álcool do 6-bromo-hexanol. O 8-nonenol foi tosilado e então reagido com iodeto de potássio, levando ao 9-iodo-1-noneno (**34**) em bom rendimento. O sal de fosfônio derivado foi obtido através do refluxo do iodeto **34** em acetonitrila na presença de excesso de trifenilfosfina,¹¹² conforme mostrado no (Esquema 1.31). O sal de fosfônio **36** foi purificado através de cromatografia flash utilizando-se 20 % de metanol em acetato de etila como fase móvel. Este se apresentou na forma de uma goma, fato que tornou difícil sua manipulação.

1.5.2.4. Síntese racêmica da (Z)-7,15-hexadecadien-4-olida (**28**)

Inicialmente estudou-se a síntese racêmica da 7,15-hexadecadien-4-olida **28**. A preparação racêmica do aldeído **20** foi efetuada partindo-se do ácido β -ceto pimélico **23**, que foi primeiramente transformado no ácido **26** através de uma reação com boro-hidreto de sódio. Em seguida este composto foi convertido ao aldeído **20** seguindo a mesma metodologia utilizada anteriormente, durante a síntese da (S)- γ -jasmolactona (Esquema 1.32).

Esquema 1.32

Nas reações de olefinação do composto **20**, a ilida de fósforo formada era facilmente reconhecida por apresentar uma forte cor alaranjada. Nos primeiros testes esta foi gerada em THF usando-se *n*-BuLi como base. Sob essas condições o feromônio foi obtido em rendimento de 55%, e com uma relação Z:E igual a 80:20. Com o intuito de aumentar o rendimento da reação de *Wittig* e a seletividade da reação, vários outros sistemas base/solvente foram investigados.

Além disso, variações na temperatura reacional também foram efetuadas (Esquema 1.33). Algumas condições testadas estão descritas na tabela 1.4.

Esquema 1.33

Tabela 1.4 – Algumas condições testadas para síntese do composto 28

Ítem	Base	Solv./Temp.	Rendimento	Z:E
1	DMSONa	DMSO, ta	traços	90:10
2	n-BuLi	THF, 0 °C	50 %	80:20
3	<i>t</i> -ButOK	THF, 0 °C	-	-
4	KHMDS	THF, - 78 °C	20-55 %	>99 % Z
5	NaHMDS	THF, -100 °C	60 %	96:4

Em termos de seletividade, os melhores resultados foram obtidos quando a hexametildisilazida de potássio foi usada como base. Entretanto, a alta reatividade desta base não permitiu a reprodutibilidade dos rendimentos químicos. Neste sentido o uso da hexametildisilazida de sódio mostrou-se superior, levando normalmente à preparação do feromônio em rendimento de 60 %, com uma razão *E*:*Z* = 96:4. O composto **28** foi isolado e seus estereoisômeros separados em coluna cromatográfica com sílica dopada com nitrato de prata. Durante a purificação, verificou-se o mesmo comportamento observado na separação da γ -jasmolactona, onde o isômero (*Z*) manteve-se mais retido na coluna.

A (*Z*)-7,15-hexadecadien-4-olida **28** foi caracterizada principalmente por espectroscopia de RMN ^1H e ^{13}C . No espectro de carbono destacaram-se os carbonos olefínicos, que foram visualizados em δ 114,2; 127,7; 131,5 e 139,2 ppm. Os carbonos carbinólico e o carbonílico foram observados em δ 80,44 e 177,3 ppm, respectivamente. No espectro de ^1H (500 MHz) observou-se entre δ 4,9 e 5,9 ppm todos os hidrogênios olefínicos. Em δ 5,35 e δ 5,45 ppm os dois

duplos triplos tripletos ($J = 12,3$; $7,23$ e $1,4$ Hz, H_7 e H_8) confirmaram a configuração (*Z*) da dupla ligação entre C7 e C8 (Figura 1.16).

Figura 1.16 – Expansão do espectro de RMN ^1H da (*Z*)-7,15-hexadecadien-4-olida

Ainda no espectro de RMN ^1H em δ 5,8 ppm e em δ 4,95 ppm, foram encontrados os 3 hidrogênios correspondentes à dupla ligação terminal. O H_{15} foi observado na forma de um duplo duplo tripleto ($J = 17,4$; $10,26$ e $6,68$ Hz) e os hidrogênios H_{16a} e H_{16b} também geraram dois duplos duplos tripletos, sendo estes diferenciados pelo acoplamento em *trans* com o H_{15} na ordem de 17 Hz (H_{16a} , $J = 10,16$; $3,29$ e $1,18$ Hz; e H_{16b} , $J = 17,18$; $3,6$ e $1,6$ Hz).

1.5.2.5. Síntese enantiosseletiva da (*R*) e da (*S*)-(*Z*)-7,15-hexadecadien-4-olida

Antes das reações de olefinação de Wittig com os intermediários quirais serem efetuadas, foram efetuados estudos adicionais no sentido de preparar o sal de fosfônio em menor numero de etapas reacionais. A reação do 8-nonenol **33** com o complexo trifenilfosfina-bromo em acetonitrila levou a conversão direta ao brometo correspondente em alto rendimento. O composto **35** foi então

transformado no sal de fosfônio **37** mediante refluxo com trifenilfosfina em acetonitrila (Esquema 1.34).

Esquema 1.34

Com o sal de fosfônio **37** em mãos foi possível efetuar as reações de Wittig utilizando o aldeído quiral (*S*)-**20** e o lactol (*R*)-**22** como substratos. Para tal utilizou-se a melhor condição observada para a síntese da (*Z*)-7,15-hexadecadien-4-olida racêmica. Como já discutido anteriormente, na síntese da lactona de configuração (*R*) foram utilizados dois equivalentes da ilida de fósforo levando aos produtos em rendimentos razoáveis (Esquema 1.35).

Esquema 1.35

Nas análises polarimétricas foram observados os valores de $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +35,1$ para o composto (*R*)-**28** e $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -34,8$ para o composto (*S*)-**28**. Esses valores estão de acordo com a literatura,^{106,107} e permitiram a confirmação da configuração absoluta dos compostos obtidos.

Todas as tentativas de determinação do excesso enantiomérico dos produtos finais através de métodos cromatográficos levaram a resultados

insatisfatórios. Desta forma, optou-se por efetuar a hidrogenação dos compostos (*S*) e (*R*)-**28** utilizando-se paládio sobre carvão como catalisador (Esquema 1.36).

Esquema 1.36

A redução ocorreu de forma quantitativa, e levou à formação das respectivas 4-hexadecanolidas, que puderam então ser separadas por cromatografia de fase quiral utilizando-se uma coluna de β -ciclodextrina (Figura 1.17).

Figura 1.17 - Cromatogramas em fase quiral das (*R*) e (*S*)-hexadecanolidas **39**

1.6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A viabilidade do uso de reações enzimáticas, na preparação de blocos de construção quirais contendo o átomo de Se foi demonstrada através de um estudo sistemático, onde os esforços visando a obtenção de dados de conversão exatos proporcionaram a utilização do fator de estereosseletividade *E* na avaliação dos resultados. Foram utilizadas enzimas selecionadas e verificaram-se tanto a influência dos solventes quanto do tipo de substituição do seleno-hidróxiésteres precursores das selenolactonas. Não foi possível associar a atividade enzimática com a polaridade dos solventes, entretanto, determinou-se que o sistema éter etílico/PPL é o mais adequado para estas reações, pois gerou os melhores excessos enantioméricos.

Embora os excessos enantioméricos obtidos não tenham sido altos, concluímos que o objetivo inicial foi alcançado. A preparação enantiosseletiva da (*R*)- e da (*S*)- γ -valerolactona ressalta a importância da metodologia desenvolvida, bem como demonstra sua aplicabilidade na preparação de lactonas quirais de interesse sintético. Um outro exemplo interessante da aplicação destes compostos é o alongamento de cadeia, que também pode ser promovido por radicais livres com retenção de configuração¹¹³ (Esquema 1.37).

Esquema 1.37

Outro avanço importante obtido neste trabalho foi a determinação das condições de realização de triagens colorimétricas na seleção das hidrolases visando a preparação de selenolactonas quirais. Este método mostrou-se muito

interessante pois, a partir de agora, os testes preliminares sobre a compatibilidade enzimática com os substratos poderá ser efetuada com economia de tempo e reagentes. Ainda sobre hidrólises, os primeiros ensaios, onde bactérias foram testadas na produção de enzimas capazes de hidrolisar butirolactonas, abriram a perspectiva de utilização desta técnica na produção microbiana de selenolactonas quirais.

Os estudos que visaram a síntese da (*R*)- γ -jasmolactona levaram a excelentes resultados, sendo que nesta tese foi descrita a primeira síntese enantiosseletiva, com excesso enantiomérico de 92%. Entretanto, uma discrepância observada nos valores de rotação óptica quando comparada com o isômero (*S*), anteriormente sintetizada neste laboratório, motivou a repetição da síntese da (*S*)- γ -jasmolactona, sendo que esta foi concluída com excesso enantiomérico melhorado.

Contudo, a experiência obtida na preparação do (*S*)- γ -jasmolactona auxiliou-nos no sucesso obtido na preparação de ambos os enantiômeros da (*Z*)-7,15-hexadecadien-4-olida, que foram preparados em rendimentos superiores aos encontrados na literatura. Finalizando, esses resultados demonstram o grande potencial da metodologia desenvolvida, principalmente considerando o grande número de moléculas que poderão ser sintetizadas utilizando a butirolactona (*R*)-**19** como intermediário chave.

Capítulo 2

**“Novos reagentes visando a preparação
estereosseletiva de análogos da
vitamina A”**

2.1. INTRODUÇÃO

2.1.1. Os Retinóides

Dentro do universo de compostos naturais que possuem duplas ligações conjugadas, tem particular importância aqueles que apresentam atividade biológica, incluindo os macrolídeos, um grupo que compreende mais de 200 membros, os eicosanóides e os retinóides.¹¹⁴

O termo retinóides refere-se ao grupo de análogos naturais e sintéticos do retinol (vitamina A).¹¹⁵ A atividade biológica destes polienos depende tanto da natureza dos grupos funcionais presentes, quanto da geometria das duplas ligações. Por exemplo, a vitamina A é responsável pelo desenvolvimento de muitos tipos de células,¹¹⁶ enquanto os derivados retinaldeídos atuam como cromóforos de proteínas fotoreceptoras, que são fundamentais para a visão.¹¹⁷ Mais recentemente os ácidos *trans*-retinóico e 9-*cis*-retinóico (Figura 2.1), foram identificados como os ligantes naturais de uma subfamília de receptores retinóicos, que atuam como co-fatores de transcrição na diferenciação e proliferação celular.¹¹⁸

Figura 2.1 – Estrutura de alguns retinóides que possuem atividade biológica

Estruturalmente, os retinóides podem ser caracterizados como tetraenos conjugados dimetilados nas posições 9 e 13 e que possuem uma unidade hidrofóbica e outra hidrofílica nas extremidades (Figura 2.2). O interesse na síntese de retinóides está baseado principalmente na sua bioatividade, particularmente em endocrinologia. Além da vitamina A, do retinal e do ácido

trans-retinóico, os retinóides que vem sendo extensivamente estudados incluem derivados não naturais tais como a N-etilrinamida, o palmitato de retinila e a fenretinida. Estes exemplos ilustram algumas das diversas possíveis variações apenas na parte polar da molécula, o que resulta em uma significativa diferença na atividade biológica.

Figura 2.2 – Características estruturais dos retinóides

A Figura 2.3 mostra a estrutura de dois retinóides que se encontram em uso clínico, a Isotretinoína e o Etreinato. Ambos os medicamentos são utilizados no tratamento de problemas dermatológicos,¹¹⁹ como a acne e a psoríase. Entretanto, pesquisas recentes apontam para a aplicação dos retinóides na prevenção e no tratamento de vários tipos de câncer.¹²⁰ Embora os mecanismos de ação dos retinóides não sejam totalmente comprovados, de acordo com a literatura, a atividade biológica destes compostos está certamente ligada à inibição de proliferação celular, indução de apoptose e diferenciação, ou mesmo uma combinação destas ações.¹²¹

Enquanto os retinóides oferecem enorme potencial, os efeitos colaterais associados a esses compostos continuam sendo problemáticos.¹²² Os derivados da vitamina A formam, junto com a talidomida, o grupo de medicamentos de maior poder teratogênico conhecido. Por exemplo, tanto a Isotretinoína quanto o Etreinato são absolutamente contra-indicados durante a gravidez, estando

associados a síndromes e anomalias bem conhecidas, entre elas algumas malformações do sistema nervoso central.¹²²

Figura 2.3 - Estrutura de dois retinóides que se encontram em uso clínico.

2.1.2. Preparação dos retinóides

De maneira geral, as rotas sintéticas de preparação do esqueleto retinóico envolvem reações de formação de ligações carbono-carbono duplas e simples. Dentre as reações mais utilizadas encontra-se a reação de Wittig com suas variações (Horner-Wadsworth-Emmons)¹²³ e a olefinação de Julia,¹²⁴ que é considerado um método muito atrativo devido a alta estabilidade das sulfonas alílicas intermediárias em sistemas conjugados.¹²⁵ Atualmente grandes empresas como a Hoffmann-La Roche, BASF e a Aventis possuem os processos economicamente mais importantes, que geralmente partem da β -ionona **45**.¹²⁶ Um bom exemplo é o processo de síntese do retinol utilizado pela Aventis (Esquema 2.1).

Esquema 2.1

Outro exemplo é a síntese do Accutane por Hofman-La Roche¹²⁷ que envolve uma reação de Wittig com uma butenolida α,β -insaturada, seguida de uma isomerização regioespecífica da dupla ligação 11Z (Esquema 2.2).

Esquema 2.2

Através de uma revisão na literatura observou-se que as reações de acoplamento entre reagentes organometálicos catalisadas por paládio e níquel também vem sendo muito utilizadas,¹²⁸ sendo que estas envolvem principalmente ácidos borônicos,¹²⁹ compostos organoalumínio,¹³⁰ derivados organozinco¹³¹ e organoestanas.¹³² de Lera e colaboradores,¹¹⁵ por exemplo, exploraram exaustivamente a aplicação do acoplamento de Stille na preparação de retinóides. Neste estudo sistemático as várias possibilidades de desconexão foram analisadas, e as vantagens e desvantagens de cada uma delas comparadas (Esquema 2.3).

Esquema 2.3

A preocupação relacionada aos já discutidos efeitos colaterais que podem ser observados durante a aplicação terapêutica dos retinóides tem estimulado muito a preparação de outros análogos sintéticos. Alguns exemplos sintetizados recentemente¹³³ são mostrados na figura abaixo (Figura 2.4).

Figura 2.4 – Estrutura de alguns retinóides sintéticos preparados recentemente.

Dentre os compostos mostrados acima um dos mais promissores é o tetrazol **58**, que foi recentemente sintetizado em grande escala e de forma estereosseletiva através do uso de um acoplamento catalisado por paládio na etapa chave¹³⁴ (Esquema 2.4).

Esquema 2.4

2.2. Objetivos específicos e estratégia sintética

O principal objetivo desta parte do trabalho foi realizar a síntese estereosseletiva dos retinóides de configuração (9*E*, 13*E*) e (9*Z*, 13*E*) e (9*E*, 13*Z*) através do uso dos (*E*)-**63** e (*Z*)-**64** estanildieninos como intermediários chave (Esquema 2.5).

Esquema 2.5

De acordo com essa estratégia, a construção da parte apolar da molécula (ligação C8-C9) seria efetuada através de reações de acoplamento com haletos vinílicos catalisadas por paládio. Visando a inserção de um grupo metila na posição 13 e de um grupo carboxila na posição 14, o planejamento retrosintético previu o uso de reações de carboaluminação de alcinos, como mostrado no Esquema 2.6.

Esquema 2.6

A preparação dos retinóides de configuração (9Z) foi planejada através do uso da mesma estratégia sintética, partindo-se da estanana vinílica apropriada (Esquema 2.7).

Esquema 2.7

Já a síntese dos retinóides de configuração (13Z) foi planejada através de adição de cupratos aos ésteres triênicos correspondentes, conforme mostrado no esquema 2.8.

Esquema 2.8

2.3. Resultados e discussão

2.3.1. Preparação dos estanildieninos 63 e 64

Ambos os estanildieninos intermediários foram preparados a partir do 2-butin-1-ol **68**. Na preparação do (*E*)-estanildienino (**63**), o 2-butin-1-ol foi inicialmente submetido a uma estanilcupração mediante reação de hidreto de tributilestanho com o dibutilcianocuprato de lítio, de acordo com o protocolo desenvolvido por Lipshutz e colaboradores.¹³⁵ Essa reação levou a preparação do álcool alílico **69** em 80 % rendimento, que foi então oxidado ao respectivo aldeído **65** utilizando-se dióxido de manganês. Finalmente o aldeído foi transformado no estaniltrienino **63** através de uma olefinação de *Wittig* utilizando-se do sal de fosfônio **66**, previamente preparado pela reação do brometo de trimetilsilil propargila comercial com tributilfosfina (Esquema 2.9).

Esquema 2.9

Na preparação do (*Z*)-estanildienino **64**, inicialmente a vinil estanana de configuração (*Z*) (**70**) foi preparada pela reação do 2-butan-1-ol com hidreto de bis(2-metoxietoxi) alumínio (Red-Al®)¹³⁶ seguido da adição de cloreto de tributil estanho. Este composto foi oxidado ao aldeído correspondente e então reagido com a ilida proveniente do sal de fosfônio **66**, nas mesmas condições utilizadas na preparação do composto **63** (Esquema 2.9), levando ao (*Z*)-estanildienino **64** em bom rendimento, entretanto numa mistura *E*:*Z*=90:10 (Esquema 2.10).

Esquema 2.10

Algumas estratégias foram testadas na tentativa de aumentar a seletividade da reação de Wittig, entretanto estas não levaram a resultados satisfatórios. Devido à baixa polaridade destas estananas, não foi possível realizar a separação dos isômeros (*E:Z*) do composto **64** através de métodos cromatográficos. Durante a etapa de purificação dos estanilédieninos observou-se a formação de produtos derivados da perda do grupo tributilestanho da molécula. Para resolver o problema a sílica gel foi dopada pela adição de 1 % (v/v) de trietilamina ao eluente usado nas separações cromatográficas. Ambos (*Z*) e (*E*)-estanildienos foram preparados em escala de gramas (50 mmols) e mostraram boa estabilidade quando estocados congelados em benzeno e protegidos da luz branca.

2.3.2. Preparação dos haletos vinílicos

Embora alguns haletos vinílicos utilizados nas reações de acoplamento fossem compostos disponíveis no laboratório, alguns destes foram preparados utilizando-se de métodos descritos na literatura. Por exemplo, o 1-iodo 1-octeno (**72**) foi obtido pela reação de hidrozirconação do 1-octino com o reagente de Schwartz¹³⁷ em THF, seguido pela adição de N-iodosuccinimida. Já o iodeto vinílico **74** foi preparado utilizando-se do método de Takai,¹³⁸ pela reação do aldeído comercial **73** com iodofórmio na presença de cloreto de cromo (II) (Esquema 2.11).

Esquema 2.11

A preparação do iodeto vinílico **78** partindo-se do 4-pentanol, entretanto, exigiu mais etapas reacionais. Neste caso, o álcool foi inicialmente benzilado pela reação com brometo de benzila e hidreto de sódio. Com o álcool protegido em mãos, tentou-se preparar diretamente o iodeto vinílico pela reação de hidrozirconação utilizando-se do reagente de Schwartz, seguido da adição de NIS. Através desta estratégia, o composto **78** foi obtido apenas em baixo rendimento, sendo que vários outros produtos foram observados. A utilização do reagente de Schwartz gerado *in situ*, através de uma metodologia desenvolvida por Lipshutz e colaboradores,¹³⁹ levou a resultados similares. Na tentativa de preparar o composto **78** em melhores rendimentos, estudou-se a síntese da borana vinílica **77**, que poderia ser precursora do iodeto. As reações do derivado acetilênico **76** com um e dois equivalentes da pinacolborana levaram, entretanto, a total recuperação do material de partida. Nesse caso o uso de diclorozirconoceno como catalisador finalmente levou à preparação do composto **77** em rendimento que foi considerado razoável (69 %), já que esse composto mostrou baixa estabilidade na etapa de purificação. A hidrólise da borana vinílica seguida da reação com iodo levou a formação do produto **78** em bom rendimento (Esquema 2.12).

Esquema 2.12

2.3.3. Acoplamento dos estanildieninos 63 e 64 com haletos vinílicos

Seguindo a estratégia retrosintética original foram feitos estudos visando à preparação dos trieninos sililados. Em trabalhos anteriores realizados no laboratório, observou-se que a transformação das estananas vinílicas nos correspondentes derivados organozinco, seguido de acoplamento com haletos vinílicos sob catálise de paládio (0), é a melhor opção na preparação de sistemas altamente conjugados.¹⁴⁰

De maneira geral, as reações entre reagentes organozinco com haletos de alquênica ou arila na presença de paládio (0), primeiramente exploradas por Negishi,¹⁴¹ levam aos produtos de acoplamento em altos rendimentos.¹⁴² Uma das grandes vantagens da utilização deste método se concentra na baixa reatividade dos compostos organozinco, quando comparados a outros reagentes organometálicos. Esta característica particular permite a presença de grupos funcionais na molécula.¹⁴³ O ciclo catalítico aceito para a reação de Negishi segue o padrão das outras reações de acoplamento catalisadas por paládio (0) (Esquema 2.13).¹⁴⁴

Esquema 2.13

Embora existam muitos métodos de preparação de reagentes organozinco,¹⁴⁵ estes são normalmente preparados *in situ* pela transmetalização de compostos organolítio ou organomagnésio com $ZnCl_2$.¹⁴² Num procedimento típico, $ZnCl_2$ foi fundido sob argônio, dissolvido em THF e então sonificado por 5 minutos. Em outro balão o estanildienino foi reagido com *n*-BuLi em THF a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 10 minutos, levando a formação de uma solução marrom. O dienino litiado foi então transferido via cânula à solução contendo o $ZnCl_2$ a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, agitado a mesma temperatura durante 25 minutos, e depois a temperatura foi aumentada a temperatura ambiente. A espécie organozinco gerada foi então combinada com o iodeto vinílico e $Pd(PPh_3)_4$ (5%) e então agitada por 12 horas à temperatura ambiente (Esquema 2.14)

Esquema 2.14

Devido à bem conhecida falta de estabilidade dos polienos quando expostos à luz, toda a manipulação destes compostos foi efetuada em ambiente livre de luz branca. Para tal, filtros fotográficos (IG10-gold) foram adaptados nas lâmpadas do laboratório e da capela. A estratégia descrita acima levou ao sililtrieninos derivados em rendimentos variáveis, de razoáveis a bons. Devido ao fato de que o (Z)-estanildienino **64** de partida era parte de uma mistura isomérica (Z:E=90:10), a reação de acoplamento deste também levou a misturas E:Z que em alguns casos não foram separadas (Tabela 2.1).

Tabela 2.1 – Acoplamento dos dieninos (*E*)-63 e (*Z*)-64 com haletos vinílicos

Haletos vinílicos	Dienino	Produto de acoplamento	Rend.
78	(<i>E</i>)-63	80	76 %
72	(<i>E</i>)-63	81	91 %
74	(<i>E</i>)-63	82	61 %
43	(<i>E</i>)-63	83	66 % (<i>E</i> : <i>Z</i> = 91:9)
44	(<i>E</i>)-63	84	53 %
78	(<i>Z</i>)-64	85	55 %
72	(<i>Z</i>)-64	86	81 % (<i>E</i> : <i>Z</i> = 90:10)
74, <i>E</i> : <i>Z</i> = 91:9	(<i>Z</i>)-64	87	61 % (<i>E</i> : <i>Z</i> = 90:10)

Nesta etapa do trabalho contou-se também com a colaboração de um grupo do departamento de química da “Califórnia State University-Chico”. Um dos colaboradores deste projeto passou alguns dias na UCSB trabalhando tanto na preparação do catalisador de paládio quanto nas reações de acoplamento. Utilizando o mesmo procedimento usado na preparação dos trieninos **80-87**, esta equipe então trabalhou em Chico na preparação de outros trieninos derivados das estananas vinílicas **63** e **64**. Os resultados obtidos por Ball e colaboradores¹⁴⁶ estão apresentados na figura 2.5.

Figura 2.5 – Trieninos obtidos por Ball e col. usando as condições de Negishi

2.3.4. Desililação dos trieninos

Visando realizar as reações de alquilação e de carboaluminação com os silitrieninos obtidos nas reações de acoplamento, estudou-se a desililação destes compostos. De maneira geral, a reação dos substratos com carbonato de potássio em etanol à temperatura ambiente levou à desproteção dos alcinos em excelentes rendimentos e sem formação de subprodutos (Esquema 2.15).

Esquema 2.15

Os trieninos desprotegidos mostraram, entretanto, baixíssima estabilidade, mesmo quando estocados em freezer congelados em benzeno. Dessa forma, estes não foram armazenados, mas sim diretamente transformados nos próximos produtos.

2.3.5. Carboaluminação dos trieninos terminais

A reação de carboaluminação foi primeiramente publicada por Ziegler em 1952,¹⁴⁷ sendo que o maior avanço ocorreu com a descoberta de que diclorozirconoceno dirige a estereo- e regioquímica destas reações.¹⁴⁸ Além disso, as alanas vinílicas são intermediários sintéticos muito interessantes, pois podem dar origem a vários compostos vinílicos funcionalizados.¹⁴⁹ Adicionalmente, a reatividade destes intermediários pode ser drasticamente aumentada através da reação com, por exemplo, *n*-butil lítio, levando ao correspondente alanato de

alquenila. Em muitos casos os complexos “ato” formados possuem reatividade análoga aos correspondentes reagentes de *Grignard* ou de lítio¹⁵⁰ (Esquema 2.16).

Esquema 2.16

As reações de acoplamento das alanas vinílicas catalisadas por paládio na presença ou não de co-catalisadores também aparecem como uma boa opção na síntese de sistemas altamente conjugados. Por exemplo, esta metodologia foi recentemente utilizada na síntese de carotenóides, além da própria vitamina A.¹⁵¹ A figura abaixo ilustra a aplicação desta estratégia na síntese do γ -caroteno (Figura 2.5).

Figura 2.6 – Aplicação da estratégia de carboaluminação/acoplamento catalisada por Pd-Zn na síntese do γ -caroteno.

Embora ainda haja um pouco de controvérsia, as investigações sobre o mecanismo das reações de carboaluminação catalisadas por zircônio têm indicado que esta ocorre através de dois processos fundamentais: adição da ligação C-Metal sem ativação C-H ou adição da ligação C-Metal via ativação C-H. Neste contexto, o mecanismo depende da natureza e do número de grupos alquila presentes na organoalana, de sua quantidade molar além do solvente utilizado.¹⁵² Por exemplo, a carboaluminação de alquinos mediada por $\text{Me}_3\text{Al-Cp}_2\text{ZrCl}_2$ ocorre através de uma adição direta do Me-Al ao alquino assistida por um intermediário de ZrCp_2 (Esquema 2.17).

Esquema 2.17

Por outro lado, a reação de alquenos terminais com $\text{Me}_3\text{Al-Cp}_2\text{ZrCl}_2$ leva aos produtos desejados apenas em baixos rendimentos. Investigações mais recentes sobre esta reação indicam que embora a carboaluminação ocorra perfeitamente, os intermediários metalados são consumidos *in situ* através de mecanismos que envolvem β -hidrometalação.¹⁵³ Desta forma a aplicação de reagentes de zircônio impedidos quirais vem gerando excelentes resultados, pois além de levar aos produtos desejados em altos rendimentos, estes são frequentemente obtidos de forma enantiosseletiva.¹⁵⁴ Adicionalmente, essa variante assimétrica da reação de carboaluminação já vem sendo aplicada na síntese de alguns produtos de interesse.¹⁵⁵

Do ponto de vista sintético, a carboaluminação de alcinos seguida da reação da alana vinílica com cloroformiato de metila aparece como uma alternativa muito interessante na preparação dos retinóides. Esta estratégia torna possível a

inserção de uma metila na posição C13 e a formação de uma ligação carbono-carbono entre os carbonos C14 e C15 ao mesmo tempo, sendo que neste caso o carbono C15 já possui o grupo carboxila.

Visando testar esta reação nos trieninos sintetizados, elegeu-se o composto **97** para uma bateria de experimentos. Inicialmente utilizou-se um procedimento original de carboaluminação publicado por Negishi e colaboradores,¹⁴⁹ no qual o alcino é reagido com 1,7 equivalentes de trimetil alumínio na presença de 1 equivalente do diclorozirconoceno. Ao invés do uso do cloroformiato de metila, a reação foi então tratada com H₂O. Como mostrado abaixo, essas condições não levaram à formação do produto desejado, sendo observada a decomposição do material de partida (Esquema 2.18, rota i). A adição de quantidades estequiométricas de H₂O, com o intuito de aumentar a velocidade da reação de carboaluminação foi aplicada com sucesso por Wipf e colaboradores.¹⁵⁶ Entretanto, neste caso, a aplicação desta estratégia também levou a resultados insatisfatórios. Ao invés da carboaluminação, a decomposição do material de partida é que foi acelerada (Esquema 2.18).

Esquema 2.18

Devido à baixa estabilidade do composto **97**, optou-se por continuar esses estudos utilizando o alcino sililado **80**. Várias condições reacionais foram estudadas, dentre elas a variação da temperatura e das quantidades do catalisador e de trimetilalumínio. Quando foram utilizados três equivalentes de

trimetilalumínio e 10 % do diclorozirconoceno finalmente observamos o produto da carboaluminação, embora em rendimento muito baixo (Esquema 2.19).

Esquema 2.19

Com base nestes resultados, concluiu-se que a reação de carboaluminação dos trieninos poderia ser efetuada. Entretanto, a baixa estabilidade do substrato era um grande problema. Aparentemente, a velocidade de decomposição dos substratos era maior do que a própria carboaluminação. Constatou-se então que uma solução plausível seria promover o aumento da velocidade da reação de carboaluminação através do uso de excesso dos reagentes.

Com o intuito de encontrar as melhores condições para realizar esta reação utilizou-se o composto **80** num estudo sistemático, onde a quantidade de diclorozirconoceno foi aumentada para 30, 100 e 140%. Por outro lado, as quantidades de trimetilalumínio testadas chegaram até 6 equivalentes. Devido à baixa estabilidade térmica do material de partida, o controle de todas as reações foi efetuado por cromatografia em camada delgada. Alíquotas da mistura reacional foram tratadas com H_2O , extraídas com éter etílico e diretamente aplicadas na placa cromatográfica. Através destes estudos, determinou-se que com o uso de 4 equivalentes de Me_3Al e de 1 equivalente de Cp_2ZrCl_2 a 0°C a carboaluminação total do composto **97** era efetuada em 1 hora. A figura abaixo ilustra a análise cromatográfica adotada no controle da reação (Figura 2.7).

Figura 2.7 – Controle por CCD da reação de carboaluminação do composto **97**

Após a observação por CCD de que o material de partida havia sido totalmente consumido, efetuou-se a adição de excesso do cloroformiato de metila sobre a alana vinílica formada, levando ao isolamento do retinóide **105** em 89 % de rendimento, sendo que nenhum outro produto foi observado. O método foi em seguida aplicado a outros trieninos, levando a preparação de alguns retinóides de configuração (9*E*,13*E*) e (9*Z*,13*E*), como mostrado no esquema 2.20.

Esquema 2.20

Nestas reações foram encontradas dificuldades apenas na preparação do composto **107**, cuja formação não foi observada. Esse resultado está provavelmente relacionado à baixa estabilidade apresentada pelo trienino precursor quando em solução, pois a decomposição total do material de partida foi observada em menos de 15 minutos após o início da reação. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela 2.2.

Tabela 2.2 – Retinóides obtidos através da carboaluminação dos trieninos

Trienino	Retinóide	Rend.
102	105	89 %
102	106	69 %
99	107	Decomp.
98	108	65 %
100	109	81 %
101	110	91 %

A caracterização dos retinóides foi principalmente efetuada através de análises de RMN e espectrometria de massas de alta resolução. De maneira geral, os hidrogênios do sistema tetraênico foram facilmente atribuídos devido à

boa resolução dos sinais no espectro de RMN ^1H . Como exemplo, os hidrogênios vinílicos do composto **105** apresentaram a multiplicidade e as constantes de acoplamento esperadas para um sistema caracterizado por duplas ligações *E*. Na figura 2.8 temos uma expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz) referente aos hidrogênios vinílicos, que foram atribuídos como: δ 5,78 (s ap., H_a); 5,82 (dt ap., $J = 15,6$ e $6,8$ Hz, H_f); 6,08 (d, $J = 11,2$ Hz, H_d); 6,15 (d, $J = 15,6$ Hz, H_e); 6,28 (d, $J = 15,2$ Hz, H_b); 6,96 (dd, $J = 15,2$ e $11,2$ Hz, H_c).

Figura 2.8 – Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz) do retinóide 105

No sentido de verificar a eficiência da metodologia na preparação de outros retinóides, testou-se a reação de carboaluminação do substrato **97** com trietilalumínio. Observou-se, neste caso, que a reação ocorreu de forma mais rápida (a carboaluminação foi completada em 45 minutos) e o produto foi obtido em 80 % de rendimento. Entretanto, a formação de um regioisômero foi também observada (Esquema 2.21).

Esquema 2.21

É bem conhecido na literatura que a alta reatividade do Et_3Al neste tipo de reação, além das diferentes possibilidades de mecanismo, leva a misturas regioisoméricas.¹⁵⁷ Contudo, neste caso as condições reacionais não foram otimizadas.

A reação de carboaluminação com Me_3Al do composto **97** seguida de adição de I_2 mostrou-se uma boa opção na preparação do iodeto vinílico **113**, que pode ser facilmente funcionalizado, além de permitir prolongamento da cadeia carbônica ou mesmo poliênica (Esquema 2.22).

Esquema 2.22

2.3.6. Adição de cupratos aos ésteres trienínicos: Preparação dos retinóides (9E,13Z)

O plano de converter os trieninos a retinóides contendo uma dupla ligação de configuração *cis* no carbono 13 (retinóides 13Z), envolveu a conversão destes compostos aos ésteres acetilênicos correspondentes, seguidos pelo tratamento com um organocuprato, cujo método possui precedente na literatura.¹⁵⁸ Embora o mecanismo da adição de cupratos favoreça a formação do isômero desejado, em estudos anteriores realizados no laboratório¹⁴⁰ foram encontradas muitas

dificuldades no controle da estereoquímica da dupla 13Z. Na tentativa de resolver o problema, várias estratégias que são usualmente utilizadas na química de organocupratos foram testadas, tais como o uso diferentes solventes, aditivos entre outras.¹⁵⁹ A adição de Me_2CuLi usando éter etílico/hexano a -100°C foi a estratégia que levou aos melhores resultados, sendo que o produto **115** foi obtido como uma mistura ($E:Z = 95:5$). Entretanto o mesmo problema não foi observado quando o dimetilcuprato de lítio foi substituído por dibutilcuprato de lítio, onde o produto **116** foi seletivamente obtido em bom rendimento, ou por trimetilestanato de lítio em que novamente o isômero (E) não foi observado¹⁴⁰ (Esquema 2.23).

Esquema 2.23

A explicação para a formação de misturas $E:Z$ durante a adição de Me_2CuLi aos ésteres acetilênicos está provavelmente conectada ao mecanismo da reação. Embora exista uma grande controvérsia com relação aos intermediários reacionais, investigações mais recentes por RMN ^{13}C têm evidenciado a formação de um complexo π reversível entre o átomo de cobre e a ligação tripla.¹⁶⁰ Além disso, a formação de espécies vinílicas de cobre vem sendo observadas, sendo que estas podem ser equilibradas levando à perda de seletividade através da formação de um alenoato intermediário¹⁶¹ (Esquema 2.24).

Esquema 2.24

Visando a preparação do retinóide **115**, estes estudos anteriores foram retomados e o precursor **114** preparado pela reação do ânion de lítio do trienino **97** com cloroformiato de metila. Esse composto foi então submetido a uma reação com o cuprato de *Gilman* em éter a $-78\text{ }^\circ\text{C}$ que, de forma surpreendente, levou a formação do produto **115**, de forma seletiva e em bom rendimento, já na primeira tentativa (Esquema 2.25).

Esquema 2.25

Comparações do espectro de RMN ¹H (400 MHz) tanto do material bruto quanto purificado do produto **115** com seu isômero 13*E* (composto **105**, Tabela 2.2) comprovaram a seletividade desta reação que, além disso, mostrou boa reprodutibilidade. Um fato interessante é o deslocamento químico do hidrogênio H_b, que é observado no espectro do composto **105** como um duplete em δ 6.28 ppm. No caso do isômero **115**, o efeito do cone de proteção e desproteção da carboxila do éster é provavelmente o responsável por este ser observado em δ 7.77 ppm (Figura 2.9).

Figura 2.9 – Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz) do retinóide 115

Outra informação importante foi obtida na análise de nOe, onde a irradiação da metila em 2,07 ppm levou a observação dos hidrogênios vizinhos H_a em δ 5,65 ppm e H_c em δ 6,95 ppm.

2.3.7. Hidrogenação do éster acetilênico 114

A redução seletiva da tripla ligação do éster acetilênico 114 foi também testada. Neste caso, inicialmente a hidrogenação na presença do catalisador de Lindlar¹⁶² levou ao produto 118 e a outros produtos de hidrogenação. O uso de acetato de etila como solvente e o monitoramento da reação por CCD possibilitou, entretanto, a obtenção exclusiva do composto 118 em 77 % de rendimento (Esquema 2.26).

Esquema 2.26

2.4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Os resultados das pesquisas que visaram à síntese estereoseletiva de tetraenos conjugados *E:Z* apresentados nesta tese são uma extensão de um projeto que vem sendo desenvolvido por Lipshutz e colaboradores há vários anos, e teve como principal objetivo o desenvolvimento de métodos eficientes de síntese de alquenos conjugados.

Nestes estudos foi demonstrado que os estanildieninos são interessantes intermediários na síntese de retinóides, sendo que as reações de acoplamento de Negishi e a carboaluminação de Negishi foram as reações chave para obtenção dos produtos desejados. Nesse caso, os estudos visando a carboaluminação dos trieninos intermediários exigiram os maiores esforços. Entretanto, o desenvolvimento deste método pode ser considerado a maior contribuição desta parte do trabalho, pois levou à preparação de vários retinóides e em bons rendimentos.

Seguindo o planejamento inicial o retinóide **115** foi preparado seletivamente, através da adição do dimetilcuprato de lítio ao éster trienínico **114**. Desta forma foi demonstrado ser esta uma rota viável para construção de esqueletos retinóicos de configuração 13*Z*. Além disso, foram determinadas as condições de hidrogenação seletiva do composto **114**, levando à preparação do análogo não metilado em bom rendimento. Já a preparação do iodeto **113** abriu a perspectiva de utilização da metodologia na construção de cadeias poliênicas ainda maiores.

Principalmente devido à falta de estabilidade dos polienos, a manipulação química destes compostos é, de maneira geral, difícil. Quando a estratégia de síntese destes compostos altamente conjugados envolve a também sensível química dos organometálicos, esta pode ser considerada como um grande desafio.

Referências bibliográficas

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Borman, S. *C&EN* **2001**, 79, 42, 5.
2. Blaser, H.V; Spindler F.; Studer, M *Applied Catalysis A: General* **2001**, 221, 119-143.
3. Stephen, C.S. *C&EN* **2001**, 79, 40, 79-97.
4. Kraft, P.; Bajgrowicz, J.A.; Denis, C.; Fráter, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 2980-3010
5. Schader, J.; Etschmann, M. M. W.; Sell, D.; Hilmer, J. -M.; Rabenhorst, J. *Biotechnol. Lett.* **2004**, 26, 463-472
6. Tumlinson, J. H.; Klein, M. G.; Doolittle, R. E.; Ladd, T. L.; Proveaux, A. T. *Science* **1977**, 197, 789
7. McCoy, M. *C&EN* **1999**, 77, 1, 10.
8. Schoemaker, H. E.; Boesten, W. H. J.; Broxterman, Q. B.; Roos, E. C.; Kaptein, B.; Van Den Tweel, W. J. J.; Kamphuis, J.; Meijer, E. M.; Rutjes, F. P. J. T. *Chimia* **1997**, 51, 308.
9. Berger, R. G. em *Aroma Biotechnology*, Springer-Verlag, Berlin, 1995.
10. Mori, K. *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 8, 1479.
11. Shaw, N. M.; Robins, K. T.; Kiener, A. *Adv. Synth. Catal.* **2003**, 4, 345, 425.
12. Shoemaker, H. E.; Mink, D.; Wobbolts, M. G. *Science* **2003**, 299, 1694.
13. Yazbeck, D. R.; Martinez, C. A.; Hu, S.; Tao, J. *Tetrahedron: Asymm.* **2004**, 15, 18, 2757.
14. Panke, S.; Held, M.; Wobbolts, M. *Curr. Opin. Biotechnology* **2004**, 15, 1.
15. Sheldon, R. A. *Chem. Ind.* **1997**, 12-15.
16. Jones, J. B. *Tetrahedron* **1986**, 42, 3351.
17. Silverman, R.B. em *The Organic Chemistry of Enzyme-Catalyzed Reactions*, Academic Press, San Diego, 2000.
18. (a) Blow, D. M. *Acc. Chem. Res.* **1976**, 9,145; (b) Fukui T.; Soda, K. em *Molecular Aspects of Enzyme Catalysis*, Kadansha, Tóquio, 1994.
19. Fisher, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, 27, 2985.
20. Kosland, D. E.; Neet, K. E. *Ann. Rev. Biochem.* **1968**, 37, 359.

-
21. Dewar, M. S. J. *Enzyme* **1986**, 36, 8.
 22. Warshel, A.; Aqvist, J.; Creighton, S. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1989**, 86, 5820.
 23. Ongston, A. G. *Nature* **1948**, 162, 963.
 24. Hirs, C. H. W.; Moore, S.; Stein, W. H. *J. Biol. Chem.* **1960**, 235, 633.
 25. Carrea, G.; Riva, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 2226.
 26. Faber, K. em *Biotransformations in Organic Chemistry*, Springer, Berlin, 2000.
 27. Whitesides, G. M.; Wong, C-H. *Aldrichimica Acta* **1983**, 16, 27.
 28. Cambou, B.; Klibanov, A. M. *Biotechnol. and Bioeng.* **1984**, 26, 1449.
 29. Djeghaba, Z.; Deleuze, H.; Dejeso, B.; Messadi, D.; Maillard, B. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 761.
 30. Margolin, A. L.; Klibanov, A. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 3802.
 31. Lino, Y.; Tanaka, A.; Yamashita, K. *Agric. Biolog. Chem.* **1972**, 36, 2505.
 32. Suckling, C. G.; Suckling, K. E. *Chem. Soc. Rev.* **1974**, 3, 387
 33. Sharma, B. P.; Bailey, L. F.; Messing, R. A. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1982**, 21, 837.
 34. Klibanov, A. M. *Science*, **1983**, 219, 722.
 35. Straathof, A. J. J.; Panke, S.; Schmid, A. C. *Curr. Opin. Biotechnology* **2002**, 13, 548.
 36. Seitz, M.; Reiser, O. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2005**, 9, 1.
 37. (a) Serra, S.; Fuganti, C.; Brenna, E. *Trends Biotechnol.* **2005**, 23, 4, 193; (b) Rocha, S. M.; Coutinho, P.; Delgadillo, I.; Cardoso, A. D.; Coimbra, M. A. J. *Sci. Food Agric.* **2005**, 85, 199.
 38. (a) May, W. A.; Peterson, R. J.; Chang, S. S. *J. Food. Sci.* **1978**, 43, 1248. (b) Etievant, P. X.; Issanchou, S. N.; Bayonove, C. L. *J. Sci. Food. Agric.* **1983**, 34, 497.
 39. (a) Mori, K. "The Synthesis of Insect Pheromones", 1979-1989". Em: *The Total Synthesis of Natural Products*, ApSimon, J. (Ed.), Vol. 9, Nova Iorque, John Wiley & Sons, 1992, 216. (b) Mori, K. *Chem. Comm.* **1997**, 1153.
 40. Leal, W. S.; Kuwahara, S.; Ono, M.; Kubota, S. *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, 4, 3, 315-321.

-
41. (a) Tarver, J. E. Jr.; Joullié, M. M. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 815; (b) Kuramochi, K.; Itaya, H.; Nagata, S.; Takao, K.-I.; Kobayashi, S. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 7367; (c) Karlsson, S.; Hedenström, E. *Acta Chem. Scand.* **1999**, 53, 620; (d) Konno, H.; Makabe, H.; Tanaka, A.; Oritani, T. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 5393; (e) Tomioka, K.; Ishiguro, T.; Koga, K. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1979**, 652; (f) Smith, L. R.; Williams, H. J.; Silverstein, R. M. *Tetrahedron Lett.* **1978**, 35, 3231.
42. Kamerbeek, N. M.; Janssen, D. B.; Berkel, W. J. H. v.; Fraaije, M. W. *Adv. Synth. Catal.* **2003**, 345, 667.
43. Roberts, S. M.; Wan, P. W. H. *J. Mol. Cat. B, Enzymatic* **1998**, 4, 111.
44. Hilker, I.; Alphand, V.; Wohlgemuth, R.; Furstoss, R. *Adv. Synth. Catal.* **2004**, 346, 203.
45. Hilker, I.; Gutiérrez, M. C.; Alphand, V.; Wohlgemuth, R.; Furstoss, R. *Org. Lett.* **2004**, 6, 12, 1955.
46. Shimoda, K.; Kubota, N. *Tetrahedron: Asymm.* **2004**, 15, 3827.
47. (a) Rustoy, E. M.; Pereyra, E. N.; Moreno, S.; Baldessari, A. *Tetrahedron: Asymm.* **2004**, 15, 3763; (b) Forzato, C.; Gandolfi, R.; Molinari, F.; Nitti, P.; Pitaco, G.; Valentin, E. *Tetrahedron: Asymm.* **2001**, 12, 1039; (c) Brenna, E.; Negri, C. D.; Fuganti, C.; Serra, S. *Tetrahedron: Asymm.* **2001**, 12, 1871 (d) Fadnvis, N. W.; Vadivel, S. K.; Sharfuddin, *Tetrahedron: Asymm.* **1999**, 10, 3675; (e) Utaka, M.; Watabu, H.; Takeda, A. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 4369.
48. (a) Taylor, S. K.; Atkinson, R. F.; Amli, E. P.; Carr, M. D.; Van Huis, T. J.; Whittader, M. R. *Tetrahedron: Asymm.* **1995**, 6, 157; (b) Sugai, T.; Ohsawa, S.; Yamada, H.; Ohta, H. *Synthesis* **1990**, 1112.
49. (a) Lindström, M.; Hedenström, E.; Bouilly, S.; Velonia, K.; Smonou, I. *Tetrahedron: Asymm.* **2005**, 16, 1355; (b) Kamal, A.; Sandbhor, M.; Shaik, A. A. *Tetrahedron: Asymm.* **2003**, 14, 1575.
50. (a) Filippi, J.-J.; Fernandez, X.; Lizzani-Cuvelier, L.; Loiseau, A.-M. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 6267; (b) Gutman, A. L.; Zuobi, K.; Guibé-Jampel, E. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 14, 2037; (c) Blanco, L.; Guibe-Jampel, E.; Rousseau, G. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 16, 1915.

-
51. Berti, F.; Forzato, C.; Nitti, P.; Pitaco, G.; Valentin, E. *Tetrahedron: Asymm.* **2005**, 16, 1091.
52. Caro, Y.; Masaguer, C. F.; Ravinã, E. *Tetrahedron: Asymm.* **2001**, 12, 1723.
53. Fukusaki, E.; Satoda, S. *J. Mol. Catal. B: Enzymatic* **1997**, 2, 257.
54. Gutman, A. L.; Bravdo, T. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 4263.
55. Campos, M. de M.; Petragnani, N. *Tetrahedron Lett.*, **1959**, 11
56. Nicolaou, K. C.; Lysenko, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 3185.
57. Gruttadauria, M.; Apile, M.; Nodo, R.; *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 1669.
58. Nakayama, T.; Mori, K. *Liebigs Ann. Recueil* **1997**, 839.
59. Martin, V.L.; Woodard, S. S.; Katsuki, T.; Yamada Y.; Ikeda, M.; Sharpless, K. *B. J. Am. Chem. Soc.* **1981** 103, 6237.
60. Bredig, G.; Fajans, K. *Ber. Dtsch. Chem Ges.* **1908**, 41, 752
61. Chen, C-S; Fujimoto, Y.; Girdaukas, G.; Sih, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 7294
62. Colins, C. em *Introdução a métodos cromatográficos*, 6 ed., Editora da UNICAMP, Campinas, 1995.
63. (a) Toshimitsi, A.; *Phosphorus Suphur and Silicon* **2005**, 180, 935. (b) Toshimitsi, A.; Nakano, K. *Phosphorus Sulphur and Silicon* **1998**, 136, 137 e 138, 649.
64. Missio, L.J. *Tese de doutorado*, UFSCar, 2000.
65. Dhanesar, S. C.; Gisch, D. J. *J. Chrom.* **1988**, 461, 407.
66. (a) Clive, D. L. J.; Chittattu, G.; Wong, C. K. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1978**, 41; (b) Clive, D. L. J.; Chittattu, G.; Farina, V.; Kicl, W. A.; Menchen, S. M.; Russel, C.G.; Singh, A.; Wong, C. K.; Curtis, N. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 13, 4438.
67. (a) White, J. D.; Amedio, J. C. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 736; (b) Ishigami, K.; Kitahara, T. *Tetrahedron* **1995**, 51, 6431; (c) Bonini, C.; Chiumminto, L.; Evidente, A.; Funicello, M. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 7285.
68. O' Neill, J. A.; Simpson, T. J.; Willis, C. L. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 738.
69. Back, T. G.; Dick, B. P. *Chem. Comm.*, **1996**, 2567.

-
70. (a) Okamoto, Y.; Kaida, Y. *J. Chromatogr. A* **1994**, 666, 403; (b) Francote, E. *J. Chromatogr. A* **2001**, 906, 379. (c) Ward, T. J.; Frarris III, A. B. *J. Chromatogr. A* **2001**, 906, 73; Abou-Enein, H. Y. *J. Chromatogr. A* **2001**, 906, 185.
71. Cass, Q. B.; Batigalha, F. *J. Chromatogr. A* **2003**, 987, 445.
72. Clive, D. L. J.; Wang, J. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 1192.
73. Berge, J. M.; Roberts, S. M. *Synthesis* **1979**, 471.
74. Neuman, W. P. *Synthesis* **1987**, 665.
75. Hamon, D. P. G.; Richards, K. R. *Aust. J. Chem.* **1983**, 36, 2243.
76. Corey, E. J.; Suggs, J. W. *J. Org. Chem.* **1975**, 40, 2554.
77. Clive, D. L. J.; Yang, W. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 2607.
78. Chemin, A.; Mercier, A.; Deleuze, H.; Maillard, B.; Mondain-Monval, O. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, 1, 366.
79. Mori, K. *Tetrahedron* **1975**, 31, 3011.
80. Kaslauskas, R. J.; Wissfloch, A. N. E.; Rappaport, A. T.; Cuccia, L. A. *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 2656; Kim, M. J.; Choi, Y. K. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 1605; Feorgens, U.; Schneider, M. P. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 1066.
81. Cygler, M.; Grochulski, A. N. E.; Kaslauskas, R. J.; Schrag, J. D.; Bouthillier, F.; Rubin, B.; Sereqi, A. N.; Gupta, A. K.; *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 3180.
82. Janes, L. E.; Lowendahl, A. C.; Kazlauskas, R. J. *Chem. Eur. J.* **1998**, 4, 11, 2324; (b) Moris-Varas, F.; Shah, A. Aikens, J.; Neelesh, Y.; Nadkarni, P.; Rozzell, J. D.; Demirjian, D. C. *Bioorg. & Med. Chem.* **1999**, 7, 2183; (c) Baumann, M.; Hauer, B. H.; Bornscheuer, U. T. *Tetrahedron Asymm.* **2000**, 11, 4781; (d) Fai Lui, A. M.; Somers, N. A.; Kazlauskas, R. J.; Brush, T. Z.; Zocher, F.; Enzelberger, M. M.; Bornscheuer, U. T.; Horsman, G. P.; Mezzeti, A.; Schmidt-Dannert, C.; Schmid, R. D. *Tetrahedron Asymm.* **2001**, 12, 545.
83. Takahashi, K.; Someya, T.; Muraki, S.; Yoshida, T. *Agric. Biol. Chem.* **1980**, 44, 1535.
84. Vlas, A. *European Patent 0473842 A1*, **1992**
85. (a) Saito, T.; Unno, Y.; Inai, T.; Arai, S. (Hasegawa Koryo Co., Ltd.), *JP 200111243-A2*, **2001**; (b) Takagi, K.; Masamishi, I. *JP02282377-A2*, **1990**; (c) Takagi, K.; Katsuta, Y.; Yamamoto, N. *JP02282376-A2*, **1990**.

-
86. (a) Gavin, D. J.; Geraghty, N. W. A. *Synth. Comm.* **1994**, 24, 10, 1351; (b) Yamashita, M.; Tashika, H.; Uchida, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1992**, 65, 5, 1257; (c) Ballini, R.; Petrini, M.; Marotta, E. *Synth. Comm.* **1989**, 19, 575; (d) Yoshida, T.; Miyakoshi, T.; Saito, S. *Yokagaku* **1984**, 33, 9, 628; (e) Matsuda, I.; Murata, S.; Izumi, Y. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 2, 237.
87. (a) Ishikawa, M.; Endo, I. (Toray Industries), *JP 07188202 A2*, **1995**; (b) Takagi, K.; Masamishi, I. (Hasegawa Koryo Co., Ltd.), *JP 02282377 A2*, **1990**; (c) Takagi, K.; Katsuta, Y.; Yamamoto, N. (Hasegawa Koryo Co., Ltd.), *JP 02282376 A2*, **1990**. (d) Dubs, P. (Givaudan, L. et Cie S. A.), *CH 786179 19770331*, **1977**.
88. Missio, L. J.; Comasseto, J. V. *Tetrahedron: Asymm.* **2000**, 11, 4609.
89. Bourdineaud, J. P.; Ehret, C.; Petrzilka, M. (Givaudan-Roude) *International Patent WO94/07887*, **1994**
90. Fuganti, c.; Grasseli, P. Zucchi, G; Allegrone, G.; Barbeni, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, 3, 2777.
91. Emerson, W. S.; Longley Jr., R. I.; *Org. Synth. Coll.* **1963**, 4, 302.
92. (a) Pirillo, D.; Leggeri, P.; Vercesi, D.; Azzolina, O.; Traverso, G. *Il Farmaco – Ed. Sc.* **1985**, 40, 9, 623.
93. Eliel, E. L.; Willen, S. H. em *Stereochemistry of Organic Compounds*, Wiley & Sons, New York, 1994.
94. Seyden-Pene, J. em *Reductions by the Alumino and Borohydrides in Organic Synthesis*, WCH Publishers, Chicago, 1991
95. Kido, F.; Tsutsumi, K.; Maruta, R.; Yoshikoshi, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 6420.
96. Buss, A.D.; Warren, S. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1985**, 2307.
97. Heath, R. R.; Tumlinson, J. H.; Doolittle, R. E.; Duncan, J. H. *J. Chrom. Sci.* **1977**, 15, 10.
98. Maryanoff, B. E.; Reitz, A. B.; Duhl-Emswiler, B. A. *J. Amer. Chem. Soc.* **1985**, 107, 217.
99. Ohloff, G.; Vial, C.; Naf, F.; Pawlak, M. *Helv. Chim. Acta* **1977**, 112, 1161.
100. Heathcock, C. K.; Ratcliffe, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 1746.

-
101. Yoon, N. M.; Pak, G. S.; Brown, H. C.; Krishnamurthy, S.; Stocky, T. P. *J. Org. Chem.* **1973**, 28, 2786; Hanessian, S. Ugolini, A. Therien, M. *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 4427.
102. *Corrigenda: Tetrahedron: Asymm.* **2003**, 14, 145.
103. Karlson, P.; Luscher, M. *Nature* **1959**, 183, 55
104. Silva, D. C. *Tese de Mestrado*, UFPR, **1999**
105. (a) Mori, K., *Chem. Commun.* **1977**, 1153.; Sanière, M., Charvet, I., Le Merrer, Y., Depezay, J-C., *Tetrahedron* **1995**, 51, 1653; (b) Tumlinson, J. H., Klein, M. G., Doolittle, R. E., Ladd, T. L., Proveaus, A. T., *Science* **1977**, 197, 789.
106. Leal, W. S.; Kuwahara, S.; Ono, M.; Kubota, S. *Bioorg. & Med. Chem.* **1996**, 4, 3, 315.
107. Kuwahara, S.; Hamade, S.; Yoshinaga, Y.; Leal, W. S.; Kodama, O. *Biosci. Biotech. Biochem.* **1997**, 61, 10, 1696.
108. Benkeser, R.A. *Synthesis* **1971**, 358.
109. Lipshutz, B. H.; Hackman, C. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 7437.
110. Grummitt, E. P.; Budewitz, E. P.; Chudd, C.C. *Organic Syntheses Coll.* **1963**, IV, 748.
111. Fouquet, M. Schosser, M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1974**, 13, 82.
112. Pommier, A.; Pons, J-M; Kocienski, P. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 7334.
113. Burke, S. D.; Fobare, W. F.; Armistead, D. M. *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 3348.
114. Thirsk, C.; Whiting, A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1* **2002**, 999.
115. Domingues, B.; Iglesias, B. e Lera, A. R. *Tetrahedron* **1999**, 55, 15071.
116. Blomhoff, R.; Green, M. H.; Berg, T.; Norum, K. R. *Science* **1990**, 250, 399.
117. Nakanishi, K. *Pure Appl. Chem.* **1991**, 63, 161.
118. (a) Lanyi, J. K. *Nature* **1995**, 375, 461; (b) Evans, R. M.; Mangelsdorf, D. J. *Cell* **1995**, 83, 841.
119. Leyden, J.; Shalita, A.; Thiboutot, D.; Washenik, K.; Webster, G. *Clinical Therapeutics* **2005**, 27, 2, 216.
120. (a) Bagi, C. M. *Adv. Drug. Del. Rev.* **2005**, 57, 995; (b) Ross, A. C. *J. Nutr.* **2003**, 133, 271S.

-
121. (a) Ribati, D.; Alessandri, G.; Baronio, M.; Raffaghello, L.; Cosmo, E.; Marimpietri, D.; Montaldo, P. G.; De Falco, G.; Caruso, A.; Vacca, A.; Ponzoni, M. *Int. J. Câncer* **2001**, 94, 314; (b) Shan, D.; Gopal, A. K.; Press, O. W. *Clin. Cancer Res.* **2001**, 7, 2490; (c) Torrisi, R.; Decensi, A.; Formelli, F.; Camerini, T.; De Palo, G. *Drugs* **2001**, 61, 909 (d) Altucci, L.; Rossin, A.; Rappersberger, W.; Reitmair, A.; Chomienne, C.; Gronemeyer, H. *Nature Med.* **2001**, 7, 6, 680.
122. Smith, W.; Saba, N. *Critical Reviews in Oncology Hematology* **2005**, 55, 2, 143.
123. Maryanoff, B. E.; Heitz, A. B. *Chem. Rev.* **1989**, 89, 863; Pommer, H. *Angew. Chem.* **1977**, 89, 437.
124. Jeon, H-S.; Yeo, J. E.; Jeong, Y. C.; Koo, S. *Synthesis* **2004**, 17, 2813.
125. Jeong, Y. C.; Ji, M.; Lee, J. S.; Yang, J-D.; Jin, J.; Baick, W.; Koo, S. *Tetrahedron* **2004**, 60, 10181.
126. Valla, A. R.; Cartier, D. L.; Labia, R. *Curr. Org. Synth* **2004**, 1, 123-165.
127. Lucci, R. US patent 4,556,518; Hoffmann-La Roche Inc., Nutley, N.J.; 3 de dezembro, **1985**.
128. (a) Otero, M. P.; Torrado, A.; Pazos, Y.; Sussman, F.; de Lera, A. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 5876. (b) Trost, B.M.; Sorum, M. T.; Chan, C.; Harms, A. E.; Ruhter, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 698-708; (c) Hopf, H.; Krauze, N. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 3323.
129. Suzuki, A. *Pure Appl. Chem.* **1994**, 66, 213.
130. Beard, R. L. et al. *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 2820.
131. Johnson, A. T.; Wang, L.; Gillett, S. J.; Chandraratna, R. A. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 573.
132. Thibonnet, J.; Prié, G.; Abarbri, M.; Duchene, A.; Parrain, J-L. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 3151.
133. (a) Alvarez, R.; Vega, M. J.; Kammerer, S.; Rossin, A.; Germain, P.; Gronemeyer, H.; de Lera, A. R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 6117. (b) Domínguez, M.; Alvarez, R.; Martras, S.; Farrés, J.; Pares, X.; de Lera, A. R. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 3368; (c) Patel, J. B.; Huynh, C. K.; Handratta, V. D.; Gediya, L. K.; Brodie, A. M. H.; Goloubeva, O. G.; Clement, O. O.; Nanne, I. P.;

-
- Soprano, K. R.; Njar, V. C. O. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 6716; (d) Wang, Y.; Lugtenburg, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 5100; (e) Valla, A.; Prat, V.; Laurent, A.; Andriamialisoa, Z.; Cartier, D.; Giraud, M.; Labia, R. *Helv. Chim. Acta* **2001**, 84, 3423
134. Garipova, G.; Gautier, A.; Piettre, S. R. *Tetrahedron* **2005**, 61, 4755.
135. Lipshutz, B. H.; Ellsworth, E. L.; Dimock, S. H.; Reuter, D. C. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 16, 2065.
136. Harashima, S.; Oda, O.; Shigeo, A.; Kojima, K. *Tetrahedron* **1991**, 47, 16, 2773.
137. Buchward, S.; LaMaire, S. J.; Nielsen, R. B.; Watson, B. T.; King, S. M. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 34, 3895.
138. Takai, K.; Nitta, K.; Utimoto, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 7408.
139. Lipshutz, B. H. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 50, 7257.
140. Chrisman, W., *Tese de doutorado*, University of California, Santa Barbara, **2004**
141. Negishi, E. *Acc. Chem. Res.* **1982**, 15, 340.
142. Tsuji, J. em *Palladium Reagents in Organic Synthesis*. John Wiley & Sons, Chichester, 1995.
143. Boudier, A.; Bromm, L. O.; Lotz, M.; Knochel, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 4414.
144. Li, J. J. em *Name Reactions*, Springer, Berlin, 2002
145. Knochel, P.; Singer, R. D. *Chem. Rev.* **1993**, 93, 2117.
146. Ball, D. B.; Howell, J.; Chrisman, W. Department of Chemistry, California State University – Chico, USA.
147. Zeigler, K. *Brennst. Chem.* **1952**, 33, 193.
148. Van Horn, D. E.; Negishi, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 7, 2252.
149. Okukado, N.; Negishi, E. *Tetrahedron Lett.* **1978**, 2357.
150. Jenkins, P. R. em *Organometallic Reagents in Synthesis*, Oxford University Press, Oxford, 1994

-
151. (a) Negishi, E.; Okukado, N.; King, A. O.; Van Horn, D. E.; Spiegel, B. I. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 2254; (b) Qian, M.; Huang, Z.; Negishi, E. *Org. Lett.* **2004**, 6, 10, 1351.
152. Negishi, E.-I.; Kondakov, D. Y.; Choueiry, D.; Kasai, K.; Takahashi, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 9577.
153. Kondakov, D. Y.; Negishi, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 10771.
154. Novak, T.; Tan, Z.; Liang, B.; Negishi, E. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 2838; (b) Negishi, E. Tan, Z. Liang, B. Novak, T. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, 101, 5782. (c) Kondakov, D. Y.; Negishi, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 1577.
155. (a) Tan, Z.; Negishi, E. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, 43, 2911-2914; (b) Magnin-Lachaux, M.; Tan, Z.; Liang, B.; Negishi, E. *Org. Lett.* **2004**, 1425; (c) Zeng, X.; Zeng, F.; Negishi, E. *Org. Lett.* **2004**, 6, 19, 3245.
156. Wipf, P.; Lim, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1993**, 32, 1068; Ribe, S.; Wipf, P. *Chem. Comm.* **2001**, 299.
157. Negishi, E.; Horn, D. E. V.; Yoshida, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 6639.
158. (a) Corey, E. J.; Katzenellenbogen, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 7, 1852; (b) Siddall, J. B.; Biskup, M.; Fried, J. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 7, 1853.
159. Krause, N. em *Modern Organocopper Chemistry*, Willey-VCH, Weinheim, 2002.
160. (a) Nilsson, K.; Anderson, T.; Ullenius, C.; Gerold, A.; Krause, N. *Chem. Eur. J.* **1998**, 4, 10, 2051; (b) Nilsson, K.; Ullenius, C.; Krause, N. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 4194.
161. Marino, J. P.; Linderman, R. J. *J. Org. Chem.* **1981**, 46, 3696.
162. Rzasa, R. M.; Romo, D.; Stirling, D. J.; Blunt, J. W.; Munro, M. H. G.; *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 30, 5307.

Parte experimental