UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIENCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

FRANCO JAZON CAIRES

Estudos visando a síntese da caramboxina, uma toxina isolada de *Averrhoa carambola*

Ribeirão Preto
2019

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

FRANCO JAZON CAIRES

ESTUDOS VISANDO A SÍNTESE DA CARAMBOXINA, UMA TOXINA ISOLADA DE *Averrhoa carambola*

Versão Corrigida

(A versão original se encontra disponível na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP)

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências, obtido no Programa de Pós-Graduação em Química

Orientador: Prof. Dr. Giuliano César Clososki

Ribeirão Preto - SP
2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Caires, Franco Jazon
Estudos visando a síntese da caramboxina, uma toxina isolada de *Averrhoa carambola*, 2019.
137 p. : il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Química.
Orientador: Clososki, Giuliano César.

1. Caramboxina. 2.Síntese Total. 3. Toxina. 4. Aminoácido. 5. Acoplamento de Negishi.

CAIRES, Franco Jazon

Estudos visando a síntese da caramboxina, uma toxina isolada de *Averrhoa carambola*

Dissertação apresentada a Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências do Programa de Pós-graduação em Química.

Data de aprovação: ____/ ____/ ____

Banca Examinadora

Prof. (a) Dr. (a):_____

Instituição:_____

Julgamento _____

Assinatura _____

Prof.(a) Dr.(a)_____

Instituição _____

Julgamento _____

Assinatura _____

Prof.(a) Dr.(a)_____

Instituição _____

Julgamento _____

Assinatura _____

À minha mãe Maria, por todo seu amor, apoio e paciência. À memória de meu pai, cuja inteligência busco seguir. Por vocês, profundo amor e gratidão.

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador, o Prof. Dr. Giuliano Clososki, por ter dado a mim uma oportunidade de mostrar minha capacidade e por acreditar que no meu potencial. Sem suas visões, consideração e compreensão, este trabalho não teria alcançado resultados tão relevantes. Muito obrigado.

Agradeço ao professor Norberto P. Lopes, pela paciência e por sempre se dispor a ajudar. Agradeço também ao professor Paulo Marcos Donate por ceder gentilmente seu laboratório para ajuda, aos professores João Luis Callegari e Dionéia C. R. de Oliveira por trazerem sua experiência no ensinar e oportunidades ao nosso grupo.

Aos funcionários do Departamento de Física e Química da FCFRP, José Carlos Tomaz e Izabel Cristina Turatti e ao funcionário do Departamento de Química da FFCLRP, Vinicius Palaretti por seu trabalho e dedicação, sempre solícitos às nossas necessidades.

Aos companheiros de laboratório que passaram e aos presentes desde minha chegada: Misael Ferreira, Henrique Ordenha, Leandro Bozzini, Camila Bertallo, Artur Vaz, Rafael Soldi, Victor Catricala, Caroline Braz, Rafaela Catarina, Ana Mariano, Valter Murie, Rodolfo Hideki, Thaís Arroio, Thaís Melo, Thiago dos Santos. Em especial agradeço aos colegas Eduardo Silva Júnior, Pâmela Rodrigues e Murilo Mello, pois em muitos momentos me ensinaram e me ajudaram a conquistar etapas muito importantes dessa trajetória. Nesses dois anos e meio, convivi com pessoas inteligentes e muito queridas.

Aos demais colegas do grupo NPPNS.

Aos demais funcionários e professores que pude conhecer e que de alguma forma me ajudaram.

À Capes, CNPq e Fapesp por fomentarem financeiramente essa pesquisa.

À minha amiga Susie, por estar tão presente nesse período tão intenso. Os momentos de lazer eram mais agradáveis e o estresse menor, graças a você. Não vou esquecer seu orgulho de mim, ao comentar sobre este trabalho para os seus amigos. Sou muito grato por você existir na minha vida.

À minha mãe, minha coluna e família. Sem seu apoio e luta diária, eu não teria chegado tão longe. Muito obrigado por tudo que fez e faz por mim.

A todos, minha mais profunda gratidão.

RESUMO

CAIRES, F.J. **Estudos visando a síntese da caramboxina, uma toxina isolada de *Averrhoa carambola***. 2019. 137f. Dissertação (Mestrado). Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Relatos sobre a toxicidade da fruta carambola (*Averrhoa carambola*) em pacientes com disfunção renal, com alguns desses pacientes chegando ao óbito, foram atribuídos a uma toxina denominada caramboxina, um aminoácido não peptídico derivado da fenilalanina, recentemente isolada por pesquisadores da Universidade de São Paulo. Com isso, este estudo foi planejado com o objetivo principal de investigar estratégias de síntese que permitiriam a síntese total da toxina. A partir do desenvolvimento inicial de uma rota sintética que empregou um aril-triflato para uma reação de acoplamento cruzado de Heck e a olefina acrilaldeído, que não se mostrou efetiva, outras rotas sintéticas foram planejadas empregando uma olefina derivada do aminoácido serina ou fazendo uso de produtos sintetizados durante o estudo, através de reações que conduzissem à molécula alvo. Apesar dos resultados negativos obtidos, a variação de estratégias permitiu maior compreensão acerca da síntese, além de contribuir para o estudo de diferentes metodologias. Entretanto, uma rota que fez uso da reação de acoplamento cruzado de Negishi com composto organozinco oriundo da serina como etapa chave, foi capaz de levar à síntese total da caramboxina, permitindo inclusive obter o produto assimétrico, conforme observado em análises de quantificação de enantiômeros. Com bons rendimentos na obtenção dos blocos de construção e na etapa chave de acoplamento, a rota exigiu dez etapas, desde os materiais de partida até a desproteção total, apresentando 33% de rendimento global, com boa reprodutibilidade e escalabilidade. Assim, com a obtenção da caramboxina sintética poderão ser respondidas várias lacunas, tanto em nível molecular (mecanismo de ação), quanto sobre sua farmacocinética.

Palavras-chave: caramboxina, síntese total, toxina, aminoácido, acoplamento de Negishi

ABSTRACT

CAIRES, F.J. **Studies aiming at the synthesis of caramboxin, a toxin isolated from *Averrhoa carambola***. 2019. 137p. Dissertation (Master). Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto,2019.

Reports on the toxicity of star fruit (Averrhoa Carambola) in patients with renal dysfunction, with some of them coming to death, were attributed to a toxin named caramboxin, a non-peptidic amino acid derived from phenylalanine, recently isolated by researchers from the University of São Paulo. Thus, this study was designed with the main objective of investigate strategies that would allow the total synthesis of the toxin. Starting from the initial development of a synthetic route that used an aryl-triflate for a cross coupling reaction of Heck with the olefin acrylaldehyde, which did not show effectiveness, other routes were planned using an olefin derived of the serine amino acid or making use of synthetized products obtained through the study, employing reactions that would lead to the target molecule. Despite the negative results, the variation of strategies allowed greater comprehension of the synthesis contributing to the study of different methodologies. However, a route that used the cross-coupling reaction of Negishi with an organozinc compound derived of serine as key step, led to the total synthesis of caramboxin including the obtention of the asymmetric product, as observed in enantiomers quantification analysis. With good yields for the building blocks and the cross-coupling key step the route required ten steps, from the starting materials to the total deprotection, exhibiting 33% of overall yield with good reproducibility and scalability. Thus, with the obtainment of synthetic caramboxin, will be possible to answer different gaps, both at the molecular level (mechanism of action) as well as on its pharmacokinetics.

Key words: caramboxin, total synthesis, toxin, aminoacid, negishi coupling

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Representação da síntese da lactama análoga à caramboxina 14
Esquema 2. Representação da reação de Strecker para a síntese de aminoácidos18
Esquema 3. Reação enantioseletiva baseada na reação de Strecker 19
Esquema 4. Reação estereoseletiva utilizando auxiliar quiral 19
Esquema 5. Emprego da N-galactosilimina para a metodologia de Kunz 20
Esquema 6. Emprego de catalisador quiral na metodologia de Strecker 21
Esquema 7. Metodologia de Ugi para a síntese de aminoácidos 21
Esquema 8. Metodologia de síntese de aminoácidos α, α-disubstituídos 22
Esquema 9. Metodologia de Zhang para síntese assimétrica por meio da reação de Ugi 23
Esquema 10. A reação de Petasis e um exemplo de aplicação 24
Esquema 11. Metodologia de Lou empregando catalisadores quirais 25
Esquema 12. Reações de obtenção de aminoácidos catalisadas por cupratos de ordem superior 27
Esquema 13. Mecanismo geral de reações catalisadas por paládio 28
Esquema 14. As reações desenvolvidas por Richard Heck e Mizoroki 30
Esquema 15. Síntese da estrona por Tietze e colaboradores 31
Esquema 16. Síntese da Michellamina B por Dawson e colaboradores 32
Esquema 17. Síntese de β-caroteno por Negishi e colaboradores 33
Esquema 18. Metodologias estereoespecíficas desenvolvidas por Jackson e colaboradores.....34
Esquema 19. Metodologias desenvolvidas por Tuttle, Usuki e Cobb 35
Esquema 20. Síntese da *nannocystin A* por Liu 36
Esquema 21. Primeira análise retrossintética de **1**.....38
Esquema 22. Proposta para síntese de halogênios do tipo **1** 39
Esquema 23. Possíveis estratégias para obtenção do derivado ácido **131**.....39
Esquema 24. Proposta para obtenção de aminas do tipo **132** ou **133** 40
Esquema 25. Proposta para obtenção do composto **1**. 40
Esquema 26. Etapas para síntese do bloco de construção **127**.....41
Esquema 27. Etapas e condições para síntese do triflato **127** e tosilato **128**.....42
Esquema 28. Proposta para obtenção do intermediário **129**.....42
Esquema 29. Síntese do triflato modelo. 43

Esquema 30. Acoplamento cruzado de Heck com o triflato modelo. 43
Esquema 31. Acoplamento cruzado de Heck com o triflato **127**. 44
Esquema 32. Acoplamento cruzado de Heck com o acrilaldeído 46
Esquema 33. Formação do produto de acoplamento **140** 47
Esquema 34. Retrossíntese empregando o acrilato derivado de serina. 48
Esquema 35. Etapas reacionais da síntese do acrilato **27** 49
Esquema 36. Retrossíntese para estratégia alternativa utilizando **138** 50
Esquema 37. Etapa de hidrogenação do composto **138** 51
Esquema 38. Retrossíntese empregando derivado da serina com iodo. 52
Esquema 39. Síntese do intermediário derivado da serina com iodo 53
Esquema 40. Etapa empregando acoplamento do tipo Negishi 53
Esquema 41. Reação de hidrólise básica para desproteção da função cetal e éster 56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação das estruturas da caramboxina e da fenilalanina 14
Figura 2. Terminações de aminoácidos e a ligação peptídica entre eles 17
Figura 3. Estruturas de Azinomicinas e Mitosanas.....26
Figura 4. Estruturas obtidas através da abertura de aziridinas.....26
Figura 5. Espectro de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **138** 45
Figura 6. Espectro de massas obtido para a reação entre **127** e **143** 50
Figura 7. Cromatogramas obtidos para os produtos de hidrólise de **146** 54
Figura 8. Espectro de massas de alta resolução para o acoplamento entre **127** e **146** 55
Figura 9. Espectro em modo negativo obtido para o produto de hidrólise básica 148 57
Figura 10. Espectro para a hidrólise empregando *terc*-butóxido de sódio.....58
Figura 11. Espectro para a desproteção por aquecimento do material **148** 58
Figura 12. Espectros de massas e RMN de ^{1}H (300 MHz, D_2O) para amostra submetida a termólise 59
Figura 13. Cromatograma obtido análise CL/EM para amostra submetida a termólise 60
Figura 14. Espectros de massas obtidos para hidrólise utilizando ácido fosfórico ...61
Figura 15. Espectro de massas do produto **1** após hidrólise ácida, empregando HCl 62
Figura 16. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) para **1** purificado por Sephadex® 64
Figura 17. Espectro de massas para a purificação por extrações no ponto isoelétrico 65
Figura 18. Espectro de RMN de ^{1}H de **1** (500 MHz, MeOH) 67
Figura 19. Cromatogramas obtidos das análises quirais para o produto enantiomérico (A) e para a mistura racêmica (B) e sua sobreposição 69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Condições reacionais para o acoplamento cruzado de Heck 44
Tabela 2. Valores de pH tomados para extrações através do ponto isoelétrico 65
Tabela 3. Comparação dos dados obtidos da CBX natural com a CBX sintética.....68

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Å	Ångström
BOC	*terc*-Butoxicarbonila
Boc_2O	Di-*terc*-butil dicarbonato
CBX	Caramboxina
CCD	Cromatografia em camada delgada
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
CG	Cromatografia gasosa
CL/EM	Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas
°C	Graus Celcius
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
dt	Duplo tripleto
Da	Dalton
DBU	1,8-Diazabiciclo [5.4.0] undec-7-eno
DIAD	Azodicarboxilato de di-isopropila
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMF	Dimetilformamida
DMSO-d6	Dimetilsulfóxido deuterado
EMAR	Espectrometria de massas de alta resolução
eV	Elétron-volt
g	Gramas
GABA	Ácido gama-aminobutírico
h	Hora
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
Hz	Hertz
J	Constante de acoplamento
kPa	Kilo-Pascal
LDA	Diisopropilamida de lítio
µm	Micrômetro
m	Multipleto
m/z	Relação massa carga
mg	Miligrama

mL	Mililitro
min	Minutos
MHz	Mega hertz
Me	Metila
mw	Micro-ondas
NBS	*N*-Bromosuccinimida
OTf	Triflato
ppm	Partes por milhão
q	Quadupleto
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN ^{1}H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze
s	Simpleto
SPhos	2-Diciclohexilfosfino-2,6-dimetoxibifenil
t	Tripleto
tap	Tripleto aparente
t.a.	Temperatura ambiente
TEA	Trietilamina
Tf_2O	Anidrido Trifluorometasulfônico
TFA	Ácido trifluoroacético
TFAA	Anidrido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
TMEDA	Tetrametiletilenodiamina
TMS	Tetrametilsilano
TMSCl	Clorotrimetilsilano
TMSCN	Cianotrimetilsilano
TsCl	Cloreto de Tosila
Ts	Metilbenzenosulfonato (Tosil)
δ	Deslocamento químico

Sumário

1. INTRODUÇÃO 9

1.1. A CARAMBOXINA, SUA ORIGEM E SEUS EFEITOS 11

1.2. AMINOÁCIDOS, SUAS CARACTERÍSTICAS E SUA SÍNTESE 15

1.3. AS REAÇÕES CATALISADAS POR PALÁDIO E SUA IMPORTÂNCIA SINTÉTICA 27

2. OBJETIVO GERAL 37

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 38

3.1. ABORDAGEM INICIAL PARA A SÍNTESE DA CARAMBOXINA 38

3.2. NOVA ABORDAGEM SINTÉTICA EMPREGANDO ACRILATO DERIVADO DA SERINA 47

3.3. NOVA ABORDAGEM SINTÉTICA EMPREGANDO O PRODUTO 138 50

3.4. NOVA ABORDAGEM SINTÉTICA EMPREGANDO O DERIVADO DE SERINA 146 52

3.4.1. ESTUDOS VISANDO A PURIFICAÇÃO DO PRODUTO 1 63

4. CONCLUSÃO 72

5. MATERIAIS E METODOLOGIAS 73

5.1. PROCEDIMENTOS GERAIS 73

5.1.1. CARACTERIZAÇÃO E ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS E ESPECTROMÉTRICAS 74

5.1.2. ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS 74

5.1.3. ANÁLISES ESPECTROMÉTRICAS 75

5.2. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS 75

5.2.1. PREPARAÇÃO DA 5,7-DIHIDROXI-2,2-DIMETIL-4H-BENZO[D][1,3]DIOXIN-4-ONA (125) 75

5.2.2. PREPARAÇÃO DA 5-HIDROXI-7-METOXI-2,2-DIMETIL-4H-BENZO[D][1,3]DIOXIN-4-ONA (126) 76

5.2.3. PREPARAÇÃO DE TRIFLUORMETANOSULFONATO DE 7-METOXI-2,2-DIMETIL-4H-BENZO[D][1,3]DIOXIN-5-IL (127) 76

5.2.4. PREPARAÇÃO DA METILBENZENOSULFONATO DE 7-METOXI-2,2-DIMETIL-4H-BENZO[D][1,3]DIOXIN-5-IL (128) 77

5.2.5. PREPARAÇÃO DA 2-HIDROXI-4-METOXIBENZOATO DE METILA (135) 77

5.2.6. PREPARAÇÃO DA 4-METOXI-2-(((TRIFLUORMETIL)SULFONIL)OXI)BENZOATO DE METILA (136) 78

5.2.7. PREPARAÇÃO DA (E)-4-METOXI-2-(3-METOXI-3-OXOPROP-1-EN-1-IL)BENZOATO DE METILA (137) **79**
5.2.8. PREPARAÇÃO DE (E)-3-(7-METOXI-2,2-DIMETIL-4-OXO-4H-BENZO[D][1,3]DIOXINA-5-IL)ACRILATO (138) **79**
5.2.9. PREPARAÇÃO DA 3-(7-METOXI-2,2-DIMETIL-4-OXO-4H-BENZO[D][1,3]DIOXINA-5-IL)PROPANAL (139) **80**
5.2.10. PREPARAÇÃO DE SERINATO DE METILA (141) **81**
5.2.11. PREPARAÇÃO DE (TERC-BUTOXICARBONIL)SERINATO DE METILA (142) **81**
5.2.12. PREPARAÇÃO DE 2-((TERC-BUTOXICARBONIL)AMINO) ACRILATO DE METILA (143) **82**
5.2.13. PREPARAÇÃO DE METIL 2-((TERC-BUTOXICARBONIL)AMINO)-3-IODOPROPANOATO (144) **82**
5.2.14. PREPARAÇÃO DE METIL 3-(7-METOXI-2,2-DIMETIL-4-OXO-4H-BENZO[D][1,3]DIOXIN-5-IL)PROPANOATO (145) **83**
5.2.15. PREPARAÇÃO DE METIL 2-((TERT-BUTOXICARBONIL)AMINO)-3-(7-METOXI-2,2-DIMETIL-4-OXO-4H-BENZO[D][1,3]DIOXIN-5-IL)PROPANOATO (147) **84**
5.2.16. PREPARAÇÃO DE ÁCIDO 2-(2-((TERT-BUTOXICARBONIL)AMINO)-2-CARBOXIETIL)-6-HIDROXI-4-METOXIBENZÓICO (148) **84**
5.2.17. PREPARAÇÃO DE ÁCIDO 2-(2-AMINO-2-CARBOXIETIL)-6-HIDROXI-4-METOXIBENZÓICO (1) **85**
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 86
APÊNDICE 96

1. INTRODUÇÃO

Desde o tempo dos grandes pensadores gregos, a humanidade tenta compreender a matéria, a fim de utilizá-la em seu benefício. Com isso, muitas teorias foram propostas ao longo dos tempos acerca de suas propriedades e usos. Todavia, a descoberta da síntese da ureia, a partir de materiais inorgânicos, feita por Wöhler em 1828, foi um evento chave na história da química e da ciência como um todo, não apenas derrubando a teoria do vitalismo, mas se tornando o ponto de partida para a criação da química orgânica, como novo ramo da química (NICOLAOU, 2000).

O impacto da descoberta de Wöhler, ainda que acidental, foi tão importante que dela derivaram outras grandes descobertas em áreas diversas da ciência e que tiveram como resultado, grandes mudanças na história humana. Hoje, não é possível imaginar a criação de fármacos, novos materiais, agroquímicos e o aumento da compreensão de fenômenos biológicos sem a química orgânica e principalmente, sem a química orgânica sintética. E dentro da química orgânica sintética, a síntese total de substâncias naturais ocupa lugar de destaque, por ser responsável não apenas pela obtenção de produtos de interesse em escala apreciável, mas também pela compreensão acerca da reatividade e de aspectos estruturais de compostos orgânicos, fatores estes que impulsionam a química orgânica, bem como áreas correlatas como biologia e medicina (NICOLAOU, 2000).

É plenamente possível compreender a importância da síntese total. O conhecimento empírico da humanidade acerca das diversas propriedades de plantas e organismos sempre despertou o interesse da ciência. Com a evolução do conhecimento científico e de diferentes técnicas de análise, foi possível então identificar quais eram os compostos responsáveis pelos efeitos conhecidos. De fato, os produtos naturais ou metabólitos secundários produzidos por plantas, fungos e outros organismos, são diretamente responsáveis pelo avanço da química orgânica sintética, bem como por mudanças históricas no progresso e desenvolvimento da sociedade, seja na área medicinal, de novos materiais ou de produtos com diferentes aplicações em ramos diversos. Muitas descobertas que mudaram o curso da humanidade estão relacionadas com essas substâncias e até hoje a pesquisa por novos fármacos é guiada em grande parte pela descoberta de produto naturais, graças à grande diversidade de organismos e à variedade de estruturas com

potenciais atividades e propriedades. Contudo, um limitador comum para esse ramo de pesquisa é a quantidade isolada dessas substâncias, frequentemente pequena e que acarreta difícil obtenção em escala apreciável e impossibilita um estudo completo de seus efeitos e características, tampouco sua aplicação medicinal ou material (NICOLAOU, 2000).

Um exemplo clássico que ilustra esse processo é o caso do ácido acetilsalicílico, popularmente conhecido como aspirina e seu precursor natural, a salicina. Hipócrates, patrono da medicina cientifica, já relatava seus efeitos no século V, antes de Cristo. O composto natural salicina presente nas folhas do salgueiro (gênero *Salix*) tinha ação analgésica e antitérmica conhecida entre curandeiros de diferentes povos, embora não fosse compreendido o que causava esses efeitos (RAVIÑA, 2011). Com a evolução do conhecimento científico e da pesquisa de produtos naturais e a partir do isolamento do princípio ativo presente na casca do salgueiro por Johan Buchner em 1828, foi possível compreender melhor sua estrutura e então, em 1897, o laboratório Bayer foi responsável por sintetizar o ácido acetilsalicílico, cujos efeitos eram semelhantes, mas sua toxicidade era menor, o que levou à criação do primeiro fármaco sintético (JEFFREYS, 2004). Outro exemplo de molécula natural que promoveu grande avanço científico e progresso humano foi a quinina, que definiu as bases para o estudo de heteroátomos presentes em estruturas orgânicas, levando a outras grandes descobertas de alto impacto para a ciência (NICOLAOU, 2004).

Ainda que a síntese total tenha sido capaz de formar estruturas antes consideradas impossíveis e tenha levado a química orgânica sintética a patamares antes inimagináveis, diversos produtos naturais com atividades biológicas ou potenciais atividades de grande interesse ainda têm sido descobertos e representam grandes desafios e oportunidades igualmente recompensadoras para a academia e para a indústria. Todavia, é importante mencionar também que muitos obstáculos ainda demandam atenção dos pesquisadores e a eficiência tem destaque nesse rol de adversidades, dado que, embora muitos produtos sejam passíveis de serem obtidos sinteticamente, as rotas desenvolvidas são por vezes muito complexas e seus rendimentos são baixos, o que desestimula a indústria a aplicá-las apesar da alta demanda por esses compostos. Um exemplo para essa problemática é o paclitaxel (Taxol®), que embora possua vias sintéticas de obtenção (HIRAI et al., 2015; NICOLAOU et al., 1994; WENDER et al., 1997), a elevada demanda pelo fármaco

promoveu metodologias semissintéticas ou biológicas para sua obtenção. Contudo, a síntese do mesilato de eribulina (comercializado como Halaven®), representa um caso de síntese total de sucesso para a obtenção de um produto complexo e de potente ação biológica, que advém de um precursor natural presente na esponja marinha *Halichondria*, cuja estrutura que passou por uma modificação, permitindo sua obtenção em escala adequada, sem que seu efeito fosse perdido, mostrando o potencial da ação conjunta de pesquisadores e indústria na geração de processos eficientes e de grande impacto para a síntese orgânica (HUANG, 2018).

Outro ponto desafiador para a química orgânica sintética e sua aplicação, a incorporação de princípios de sustentabilidade e química verde podem ser a chave para um novo marco dentro da área. A obtenção de reagentes de forma sustentável, bem como a criação de novas metodologias que incorporem essa prática são objetivos a serem atingidos, de forma a beneficiar não somente as pessoas, mas também preservar o planeta e seus recursos. A interdisciplinaridade com outras áreas da ciência também é outro fator importante que pode impulsionar o avanço da humanidade e ampliar as fronteiras do que a síntese é capaz de prover para o progresso (NICOLAOU, 2009).

1.1. A caramboxina, sua origem e seus efeitos

Nativa de regiões tropicais da Ásia como a Índia, Filipinas e Indonésia, a carambola é o fruto da caramboleira, espécie pertencente à família *Oxilidaceae*, gênero *Averrhoa*. O fruto, considerado exótico, apresenta coloração que varia do verde, passando pelo amarelo até a cor âmbar quando maduro. Possui forma bem característica, ao apresentar cinco gomos longitudinais e quando seccionada, apresenta forma de estrela, dando nome ao fruto em países de língua inglesa. Seu sabor é descrito como uma variação do doce ao azedo. O fruto é muito consumido na Europa, Estados Unidos e Austrália e também nas regiões produtoras e além do consumo *in natura* e em sucos, a carambola é processada para produção de doces, geleias, conservas, entre outras preparações (YAACOB, 1995; RAY, 2012).

No Brasil, a carambola foi introduzida no início do século XVIII e se adaptou bem nas regiões tropicais do país. A maior parte das áreas cultivadas está situada no Sudeste e o comércio entre os anos de 2000 a 2003, foi de cerca de 2000 toneladas

por ano entre consumo interno e exportações (BASTOS, 2004), o que mostra o quão relevante é a cultura da carambola.

Além de ser apreciada como alimento, rico em nutrientes como vitamina C e betacaroteno (precursor da vitamina A), e minerais como fósforo e potássio, o uso da carambola na medicina popular é conhecido (MUTHU et al., 2016). É usualmente empregada para amenizar os efeitos de febres, tosses e inflamações de pele. Estudos indicam também que extratos do fruto podem ter ação antiulcerogênica (OTUKI et al., 2011). Todavia, apesar de todos os seus benefícios nutricionais e funcionais, a carambola também contém quantidade apreciável de ácido oxálico, um composto cuja ingestão pode causar a formação de cálculos renais e processos inflamatórios, sobretudo em indivíduos com pré-disposição para doenças desse sistema, o que representa um risco de progressão e agravamento dessas doenças (ERMER et al., 2016; MUTHU et al., 2016).

O primeiro relato de intoxicação por carambola data de 1980, descrito através do trabalho de MUIR e LAM (1980). Nesse trabalho, extratos de carambola foram experimentados em ratos saudáveis, causando sua morte após aplicação intraperitoneal. Em 1993, um surto de intoxicação pelo consumo da fruta foi reportado, afetando pacientes com doença renal crônica. Entre os sintomas relatados estavam agitação e confusão mental, soluço intratável, vômitos e convulsões e somente com o uso de hemodiálise foi possível a reversão do quadro clínico observado. Membros do corpo clínico que também consumiram a fruta antes do surto não apresentaram quaisquer complicações (BARRETTI, 2015).

Até então, a correlação encontrada entre os relatos levava à hipótese de que a carambola continha um agente que promovia os quadros observados, embora sua natureza não fosse conhecida. Somente em 1998, a partir do estudo clínico de seis casos de intoxicação por carambola, com um dos pacientes chegando a óbito, Moyses-Neto e colaboradores foram capazes de determinar que o composto presente na carambola tinha efeito neurológico, estabelecendo dessa forma, a hipótese de existência de uma toxina no fruto, capaz de atravessar a barreira hematoencefálica e causar os sintomas relatados nos estudos anteriores e outros não previamente observados, como a progressão da condição clínica do paciente para estado de mal epiléptico (OLIVEIRA e AGUIAR, 2015; NETO et al., 1998).

Como consequência desses resultados, outros trabalhos sobre o tema surgiram, reforçando a ação neurotóxica do ativo presente no fruto e a escolha da diálise como tratamento eficaz, assim como a relação entre o consumo de carambola e a piora no quadro clínico de doença renal em qualquer estágio, levando rapidamente à falha da função renal. Em 2001, Chen e colaboradores indicaram o ácido oxálico como suposto responsável pela toxicidade observada, todavia, outro estudo de Neto e colaboradores relacionou o teor elevado do composto no fruto apenas a danos causados no tecido renal. A ingestão de ácido oxálico através do fruto causaria o sequestro de cálcio em níveis séricos e devido à baixa solubilidade dos cristais de oxalato, o acúmulo destes levaria ao rompimento das células renais levando ao dano observado. No entanto, o consumo de outras fontes de ácido oxálico, como o espinafre, não causava a mesma intoxicação observada quando comparada com o consumo de carambola (CHEN, 2001; NETO et al., 2009).

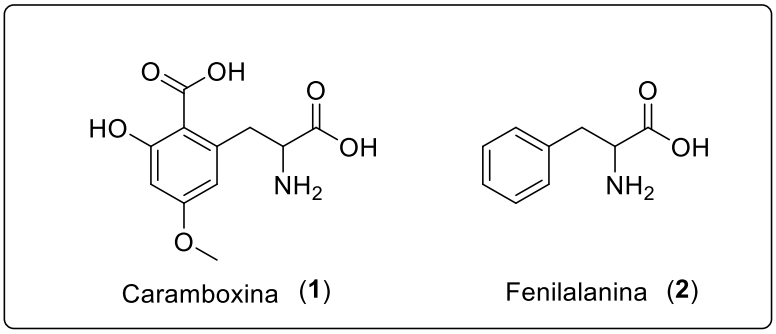
Em 2005, outro resultado importante para a compreensão da toxicidade por carambola foi alcançado por Carolino e colaboradores, que conseguiram identificar uma fração com atividade neurotóxica atuando sobre o sistema GABA, especificamente sobre receptores GABA, causando sua inibição. Além disso, o estudo foi capaz de indicar características da toxina responsável, como tendo massa molecular abaixo de 500 Da e estrutura não peptídica, diferindo do ácido oxálico (CAROLINO, 2005). Estudos posteriores contribuiriam para mostrar que a toxina estaria presente apenas no fruto (FERREIRA et al., 2008).

Finalmente, em 2013, Garcia-Caraisco e colaboradores apontaram a estrutura responsável pelo efeito neurotóxico observado. Batizada de caramboxina (figura 1), em associação com o nome do fruto, a toxina isolada de forma bioguiada apresentava esqueleto similar ao da fenilalanina, cujas características estruturais foram determinadas por análises espectrométricas. A análise de espectrometria de massas de alta resolução indicou que o composto apresentava pico com *m/z* de 256,0823 e fórmula molecular $[C_{11}H_{13}NO_6+H]^+$ (GARCIA-CAIRASCO et al., 2013).

Este trabalho, escolhido para a capa do prestigiado periódico alemão *Angewantde Chemie International Edition*, causou grande impacto social, levando a um grande interesse, em nível mundial, da imprensa falada e escrita sobre as pesquisas realizadas nas dependências da USP e o trabalho ganhou destaque em "*Hot of the Press*" do periódico *Natural Product Reports* e na seção "*Editors Choice*"

da *Science* (HILL e SUTHERLAND, 2014; HINES, 2013). Tamanho impacto fez com que a divulgação científica alcançasse o público em geral, sendo divulgado em veículos de informação, como sites e jornais (PORTAL G1, 2013).

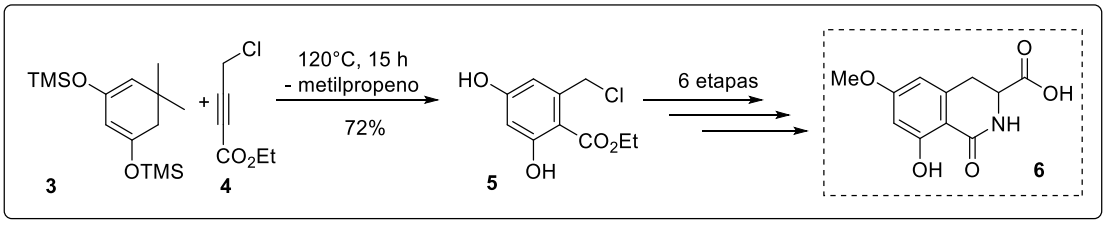
Figura 1. Representação das estruturas da caramboxina e da fenilalanina



Fonte: próprio autor

Além da descoberta da caramboxina, foi possível notar que a mesma quando armazenada em água sob temperatura ambiente, passava por uma mudança estrutural que conduzia a uma perda de sua atividade neurotóxica. A análise espectrométrica do produto de degradação mostrou que era obtido um composto análogo **6**, uma lactama com estrutura fechada em dois anéis (esquema 1). Afim de compreender a perda da toxicidade observada, o composto foi sintetizado por Silva Jr. e quando estudado não apresentou atividade biológica semelhante à da caramboxina (GARCIA-CAIRASCO et al., 2013; QUINTILIANO e SILVA JR, 2012).

Esquema 1. Representação da síntese da lactama análoga à caramboxina



Fonte: Adaptado de Quintiliano e Silva Jr (2012)

Além da determinação da toxina, em acordo com os dados obtidos por Carolino et al., indicou-se que a ação da caramboxina ocorre sobre o sistema GABAérgico. O sistema GABAérgico é composto de neurônios que secretam o ácido gama-aminobutírico de onde advém sua nomeclatura e faz parte dos principais sistemas de neurotransmissores do sistema nervoso central (SNC), juntamente com o sistema

glutamatérgico, responsável pela secreção do neurotransmissor ácido glutâmico. Através da secreção de GABA, é promovido efeito inibidor sobre o SNC, levando a um estado sedativo. De efeito contrário, o sistema glutamatérgico é responsável pelo aumento da excitação do SNC e seus receptores podem ser divididos em dois grupos: os ionotrópicos, de resposta mais rápida e os metabotrópicos, de resposta mais lenta. Ambos os sistemas têm grande importância na regulação dos processos inibitórios e excitatórios do sistema nervoso central, de forma que a alteração desse mecanismo de liberação e captação de cada neurotransmissor poder acarretar consequências graves para o funcionamento correto do corpo humano (WATANABE et al., 2002).

A caramboxina ao atravessar a barreira hematoencefálica, interage com o sistema GABAérgico alterando as ligações do GABA com seus receptores e bloqueando a atuação desse neurotransmissor, o que também altera a captação do glutamato de forma inibitória. Ao bloquear a captação do glutamato, a CBX modifica os mecanismos excitatórios das células neuronais e o excesso de glutamato que permanece na fenda sináptica promove efeitos de superestimulação que levam à morte neuronal. Quando o neurônio morre, o glutamato captado previamente é liberado agravando o efeito causado pela CBX, explicando o quadro convulsivo observado nos pacientes (OLIVEIRA e AGUIAR, 2015; CAROLINO et al., 2005; GARCIA-CAIRASCO et al., 2013).

1.2. Aminoácidos, suas características e sua síntese

Aminoácidos são moléculas que contém um grupo amino e um grupo carboxila, o que define o nome dessa classe de moléculas e constituem uma das cinco famílias mais importantes de produtos naturais. Além dessas duas características estruturais, aminoácidos contém uma cadeia lateral variável e sua classificação é feita de acordo com as demais características estruturais desses compostos, como polaridade mensurada, estrutura de cadeia lateral ou localização de seu grupo amino em relação ao grupo carboxila (recebendo letras gregas em sua nomenclatura como alfa, beta, atingido até delta). Em bioquímica, os alfa-aminoácidos são especialmente importantes, dado que sua abundância natural é superior à dos demais tipos, portanto, são referidos apenas como “aminoácidos” (NÁJERA e SANSANO, 2007).

Outro aspecto estrutural importante dessas moléculas está relacionado com sua isomeria espacial. Ao observarmos a estrutura de um aminoácido, podemos inferir que

o carbono (chamado também de carbono alfa) no qual estão ligados os grupos amino, carboxila e a cadeia lateral é um carbono assimétrico. Dessa maneira, aminoácidos são moléculas quirais e graças a esse aspecto, podem ser encontrados como enantiômeros *L* e *D*, excluindo-se a glicina, cujo carbono alfa é simétrico. Contudo, embora sejam possíveis os dois enantiômeros, aqueles de configuração *L* são muito mais abundantes na natureza. *D*-Aminoácidos, embora mais raros, podem ser encontrados na constituição de paredes celulares de bactérias ou atuar como neurotransmissor, como ocorre com a *D*-serina, por exemplo. Embora a nomenclatura *L* e *D* seja suficiente para indicar a estereoquímica absoluta de aminoácidos por terem apenas um carbono assimétrico, a designação *S/R* também pode ser empregada e nesse caso, a maioria dos aminoácidos recebe a classificação *S* (BERG, 2002).

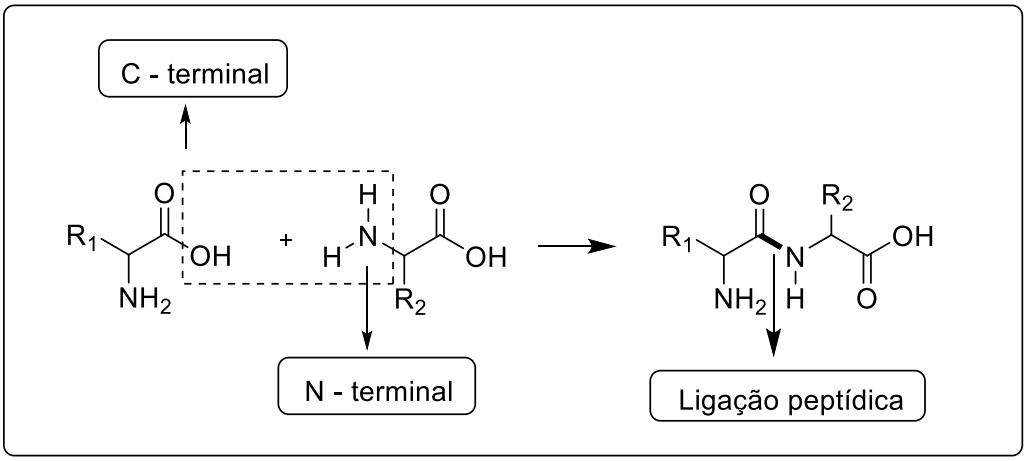
Curiosamente, embora o número de alfa-aminoácidos naturais esteja se aproximando de 1000, apenas 22 aminoácidos são encontrados no material genético de organismos vivos e dentre eles, 2 são incorporados através de mecanismos especiais. Em organismos eucariotos, como nos seres humanos, 21 deles são expressos através do código genético, embora 9 deles sejam caracterizados como essenciais, uma vez que o corpo não é capaz de sintetizá-los, exigindo que sejam obtidos através da alimentação. Esses 21 aminoácidos são especialmente importantes apesar do pequeno número, pois são classificados como proteinogênicos, o que significa que são responsáveis pela síntese de proteínas através do maquinário celular (BERG, 2002; AMBROGELLY et al., 2007; WILLIANS, 1989).

As proteínas por sua vez, podem então ser compreendidas como estruturas mais complexas formadas a partir da combinação de aminoácidos, de forma equivalente a polímeros e são de extrema importância para uma série de processos e funções de um organismo. Tecidos musculares humanos por exemplo, são constituídos de actina e miosina, duas proteínas responsáveis pelos mecanismos de movimento. Enzimas (outro exemplo de estrutura proteica) por sua vez, agem catalisando reações bioquímicas diversas (BERG, 2002).

Quando dois aminoácidos são combinados, é obtido então um peptídeo, ou mais precisamente um dipeptídeo, que recebe esse nome devido à formação de uma ligação peptídica, cuja composição ocorre através de uma reação de condensação do grupo amino (N-terminal) de uma unidade aminoácido participante, cujo caráter químico é básico, com o grupo carboxila de outro (C-terminal), de caráter ácido,

resultando em uma função amida (figura 2). A ligação de outra unidade em uma das funções restantes do peptídeo formado levaria à obtenção de um tripeptídeo. Logo, com a inserção de mais unidades, um polipeptídeo seria obtido. Como as proteínas são classificadas como macromoléculas, decorre que o número de unidades presentes é bastante elevado e pode atingir dezenas de milhares de monômeros (BERG, 2002; MONTALBETTI e FALQUE, 2005).

Figura 2. Terminações de aminoácidos e a ligação peptídica entre eles



Fonte: Adaptado de Berg (2002)

Além dos proteinogênicos, existe também a classe de aminoácidos não-proteinogênicos. Embora não sejam responsáveis pela expressão de proteínas em organismos, a importância desse grupo de moléculas não é menor. Podemos encontrar aminoácidos não-proteinogênicos como precursores de moléculas, em vias metabólicas ou atuando como intermediários, como é o caso da citrulina, que atua no ciclo da ureia. O GABA, pertencente à mesma classe, também não gera proteínas, mas atua como neurotransmissor. Além disso, podemos encontrá-los em fármacos, como a levotiroxina, utilizada para o tratamento de deficiência hormonal da tireoide (KASPERKIEWICZ et al., 2012; CURIS, 2005; WATKINS e EVANS, 1981; COLUCCI et al., 2013).

Hoje, com a tecnologia automatizada e em fase sólida de síntese de polipeptídeos, o acesso a novas estruturas proteicas, enzimas, hormônios e materiais elevou a importância dos aminoácidos, especialmente os alfa-aminoácidos, a um novo patamar. Por serem blocos formadores desses produtos, eles podem ser empregados em áreas diversas, sejam acadêmicas (medicina, biologia, química medicinal e orgânica) ou industriais (farmacêutica, alimentícia, de insumos agrícolas e materiais),

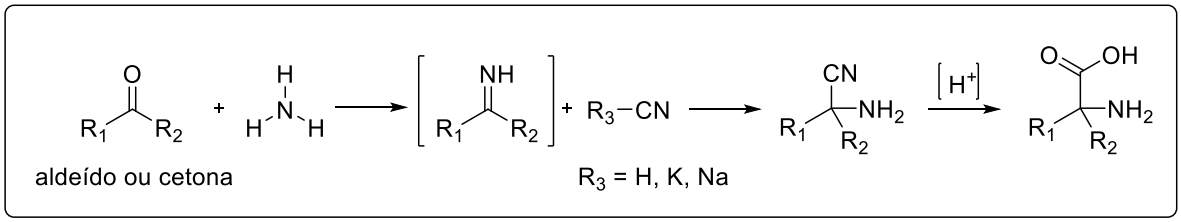
exigindo que sejam obtidos em escala maior do que a natureza pode prover (WILLIANS, 1989).

Decorrente dessa necessidade, numerosas metodologias de síntese desses compostos foram desenvolvidas e são conhecidas na literatura. Entre aquelas utilizadas na química orgânica sintética, podemos citar as reações de substituição nucleofílica de alfa-halo ácidos, a alquilação nucleofílica ou eletrofílica da glicina, a aminação de enolatos e metodologias com reagentes organometálicos. Além destas, outras que merecem destaque compreendem as metodologias de abertura de aziridinas, reações multicomponentes como a reação de Strecker, a reação de Ugi e a reação de Petasis e também as reações de acoplamento cruzado (WILLIANS, 1989; NÁJERA e SANSANO, 2007).

Uma das metodologias mais conhecidas para a síntese de aminoácidos, a reação de Strecker foi publicada pela primeira vez em 1850, pelo químico alemão Adolph Strecker e é especialmente importante, pois é uma das primeiras reações multicomponentes descobertas, além de empregar o conceito de economia atômica, o que permite obter produtos em poucas etapas sintéticas, economizando também tempo e recursos. Além disso, a reação também pode ser empregada em escala industrial (KOUZNETSOV e GALVIS, 2018).

A metodologia de Strecker emprega componentes bastante simples como cetonas e aldeídos, amônia e uma fonte de nitrilas em um único sítio de reação, no qual uma imina é formada como produto intermediário e que em seguida reage com a nitrila, resultando numa alfa-aminonitrila, obtida com alto rendimento. Uma vez sintetizado, a hidrólise do produto promove a formação de um alfa-aminoácido (esquema 2). Curiosamente, a descoberta de Strecker levou à síntese da alanina antes mesmo que a molécula fosse isolada (WANG et al., 2011).

Esquema 2. Representação da reação de Strecker para a síntese de aminoácidos

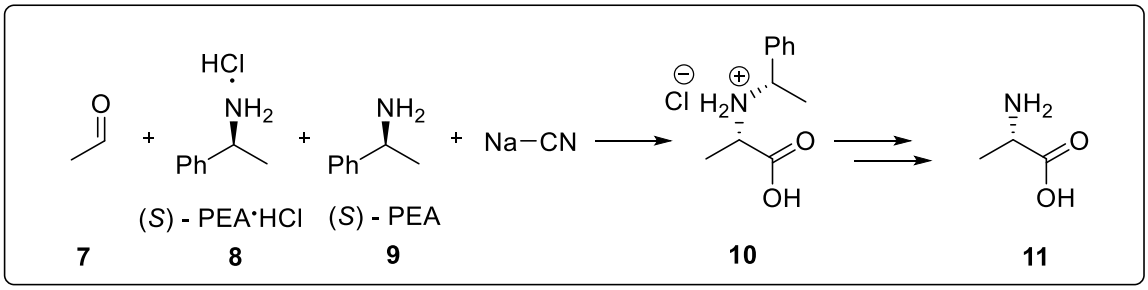


Fonte: Adaptado de Kouznetsov e Galvis (2018)

Por ser uma reação robusta, a síntese de Strecker ainda tem largo emprego na obtenção de diferentes aminoácidos, de origem natural ou não. Entretanto, modificações na metodologia foram propostas ao longo do tempo para que fossem obtidos aminoácidos de maneira enantiosseletiva, já que a metodologia original era capaz de sintetizar apenas racematos. Entre as mais efetivas mudanças, o uso de aminas opticamente puras como auxiliares quirais e o emprego de catalisadores quirais recebem destaque (KOUZNETSOV e GALVIS, 2018; WANG et al., 2011).

O primeiro resultado empregando um auxiliar quiral foi reportado por Harada em 1963, sendo também a primeira estratégia de síntese enantiosseletiva de aminoácidos. Ao empregar a (*S*)-alfa-feniletilamina, foi possível obter o produto aminoácido desejado com 90% de excesso enantiomérico (esquema 3), (WANG et al., 2011; HARADA, 1963).

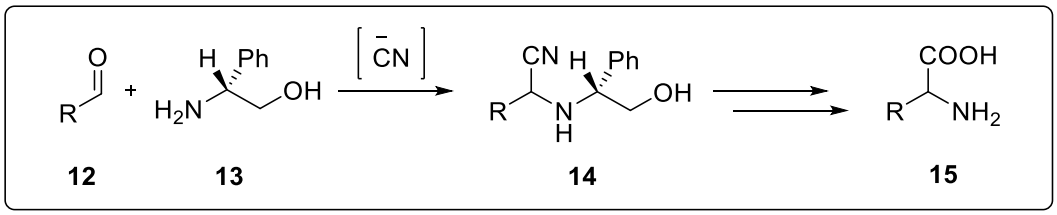
Esquema 3. Reação enantioseletiva baseada na reação de Strecker



Fonte: Adaptado de Wang (2011)

Fazendo uso de alfa-fenilglicinol como auxiliar quiral, Chakraborty e colaboradores e Hosangadi e colaboradores obtiveram bons resultados na síntese de aminoácidos diversos com excelente estereosseletividade e rendimento para uma série de aldeídos alifáticos e aromáticos (esquema 4), (CHAKRABORTY et al., 1995; DAVE e HOSANGANDI, 1999; WANG et al., 2011).

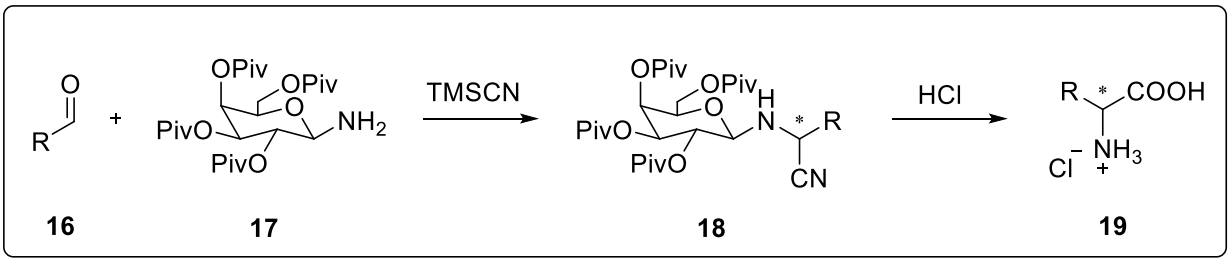
Esquema 4. Reação estereoseletiva utilizando auxiliar quiral



Fonte: Adaptado de Wang (2011)

Já no trabalho de Kunz e colaboradores, o auxiliar quiral empregado foi a N-galactosilimina, sintetizada a partir da galactosilamina, bem como o emprego de TMSCN e um ácido de Lewis em uma estratégia modificada de estudos iniciais. Bons resultados foram atingidos através dessa metodologia, cujos tempos reacionais eram pequenos e feitos sob temperatura ambiente. De acordo com o solvente utilizado, um determinado diasteroisômero era obtido (esquema 5), (KUNZ et al., 1988; WANG et al., 2011).

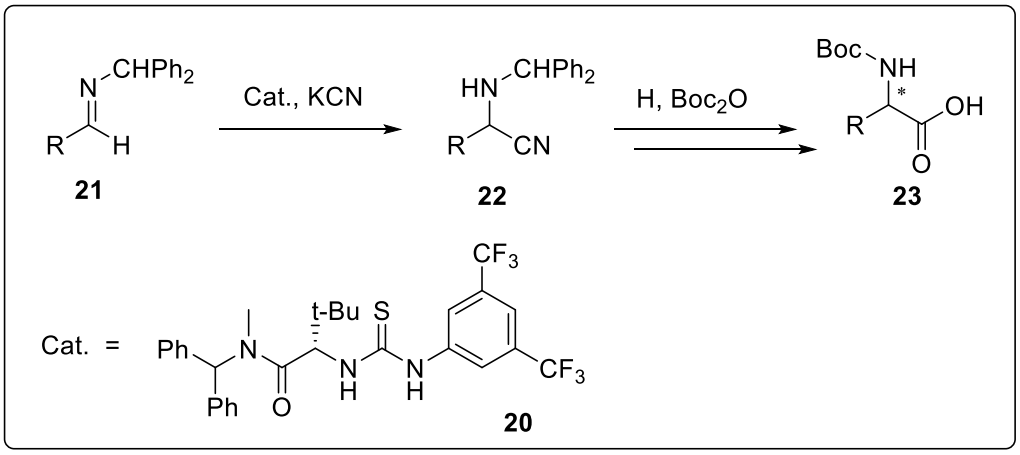
Esquema 5. Emprego da N-galactosilimina para a metodologia de Kunz



Fonte: Adaptado de Wang (2011)

Já para o emprego de catalisadores quirais, o primeiro resultado encontrado na literatura pertence ao grupo de Lipton, reportado em 1996. Empregando um catalisador orgânico, foi possível a obtenção de produtos com bons rendimentos e elevado excesso enantiomérico. A partir do resultado descoberto por Lipton, muitos outros catalisadores foram desenvolvidos, ora empregando metais de transição, ora fazendo uso de moléculas orgânicas. Entre as diferentes metodologias desenvolvidas, além de Lipton, que abriu caminho para essa estratégia, podemos destacar o trabalho de Jacobsen e colaboradores. Em seu estudo, o grupo foi capaz fazer uso de um catalisador de estrutura relativamente simples a partir da tiouréia, sem a necessidade de metais de transição. Outro aspecto a favor dessa metodologia, foi a grande variedade de aldeídos passíveis de serem utilizados como substratos na formação de iminas, bem como as condições reacionais brandas e de elevada escalabilidade, que permitiriam a obtenção de aminoácidos com alta pureza enantiomérica (esquema 6), (WANG, 2011).

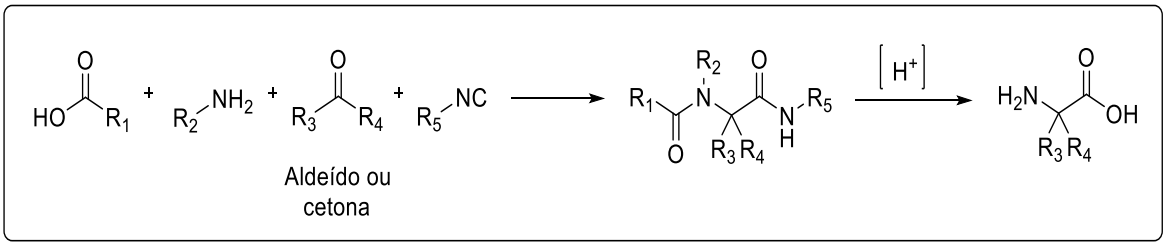
Esquema 6. Emprego de catalisador quiral na metodologia de Strecker



Fonte: Adaptado de Wang (2011)

Outra estratégia sintética multicomponente para a obtenção de aminoácidos é a reação de Ugi, que emprega 4 reagentes, sendo também nomeada por essa razão, U-4CR. Desenvolvida por Ivar Ugi em 1959, a reação emprega aminas primárias, aldeídos ou cetonas, isonitrilas e um ácido carboxílico que levam à formação de uma alfa-amino acilamida, que após hidrólise, resulta em um alfa-aminoácido, embora de forma racêmica. O esquema 7 ilustra a reação de Ugi (DÖMLING e UGI, 2000).

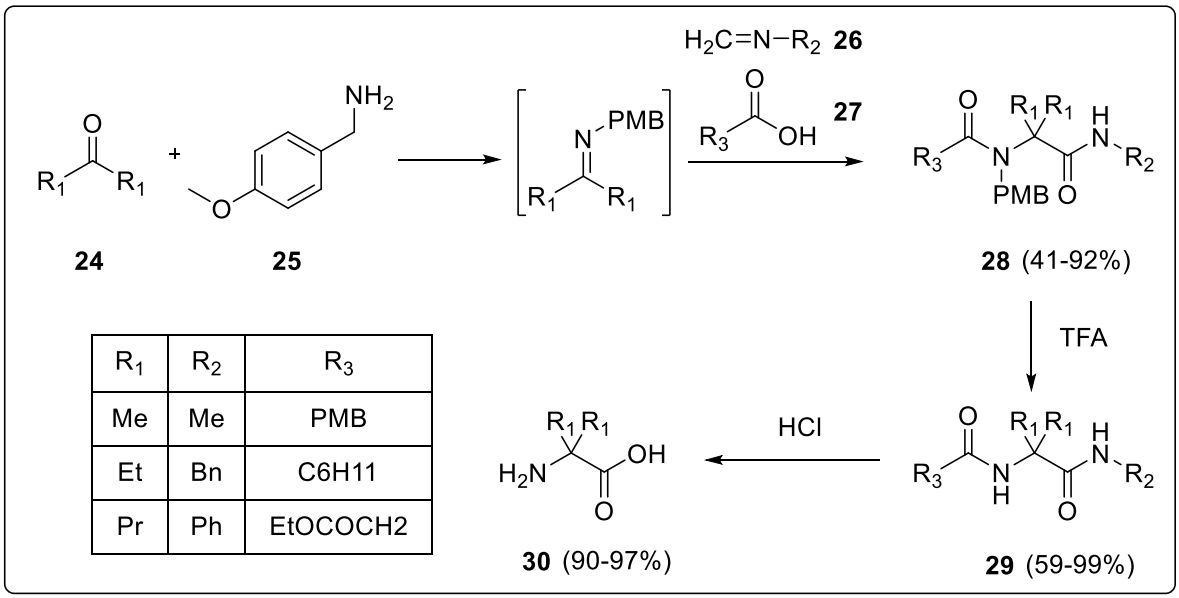
Esquema 7. Metodologia de Ugi para a síntese de aminoácidos



Fonte: Adaptado de Dömling e Ugi (2000)

Soloshonok e Sorochinsky em um trabalho de revisão mostraram uma metodologia de síntese de aminoácidos alfa,alfa-disubstituídos através da reação de Ugi com bons rendimentos. O esquema 8 resume a metodologia com alguns exemplos de substituintes e o rendimento obtido (SOLOSHONOK e SOROCHINSKY, 2010).

Esquema 8. Metodologia de síntese de aminoácidos α, α-disubstituídos

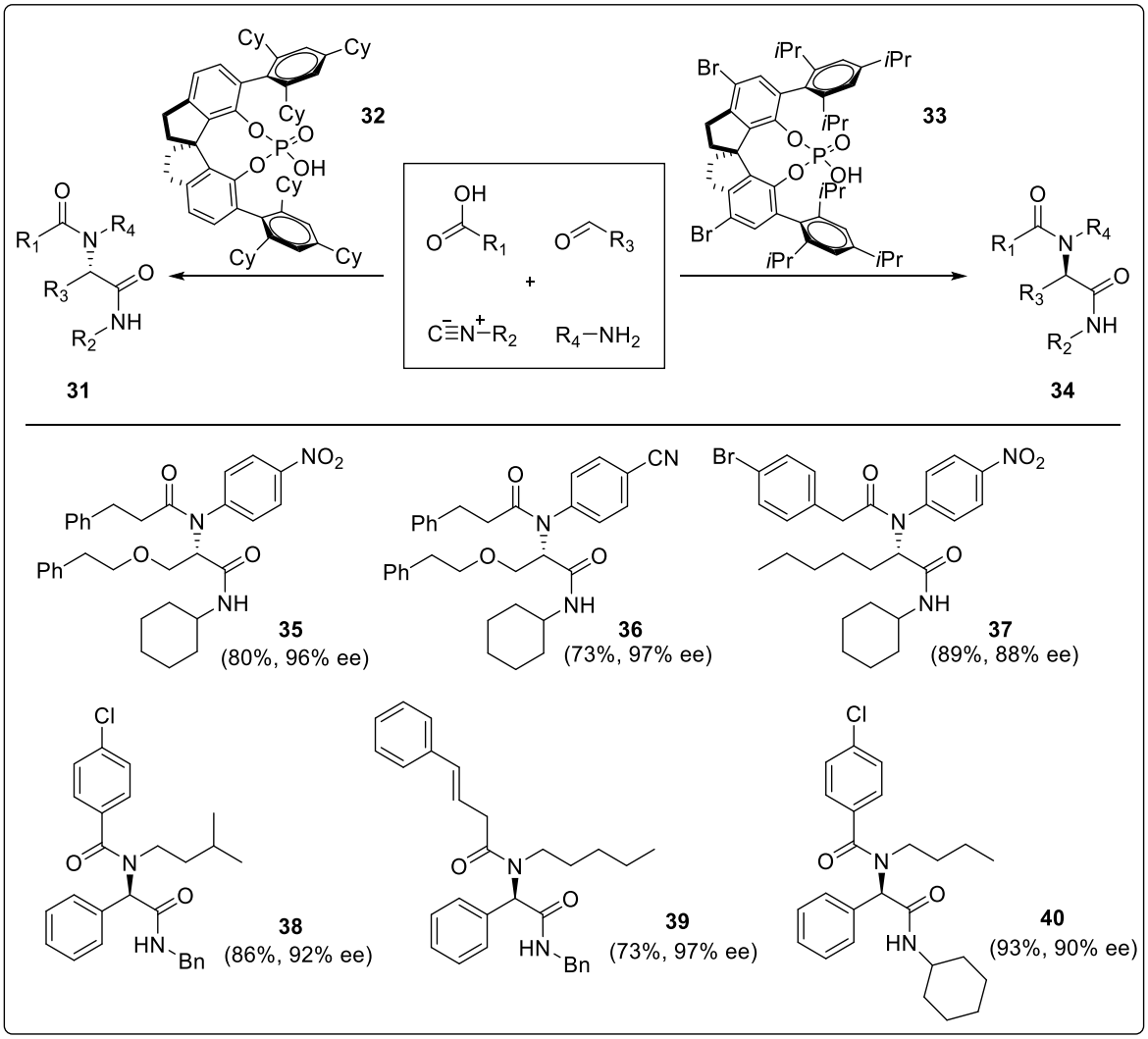


R_1	R_2	R_3
Me	Me	PMB
Et	Bn	C6H11
Pr	Ph	EtOCOCH2

Fonte: Adaptado de Soloshonok e Sorochinsky (2010)

Embora o emprego de aminas quirais tenham tornado a metodologia mais ampla a partir de 1962, ao lhe conferir maior enantiosseletividade, somente em trabalhos mais recentes isso foi incorporado de maneira mais eficiente (WANG et al, 2018, RIVA, 2018). Um exemplo de uma metodologia enantioseletiva que emprega a reação de Ugi pode ser visto no extenso trabalho de Zhang et al, no qual a utilização de um catalisador baseado no ácido fosfórico sob condições reacionais brandas permitiu o acesso a diversas estruturas similares a peptídeos, presentes em produtos naturais e moléculas biologicamente ativas. O esquema 9 mostra o esquema reacional e algumas estruturas desenvolvidas (ZHANG et al., 2018).

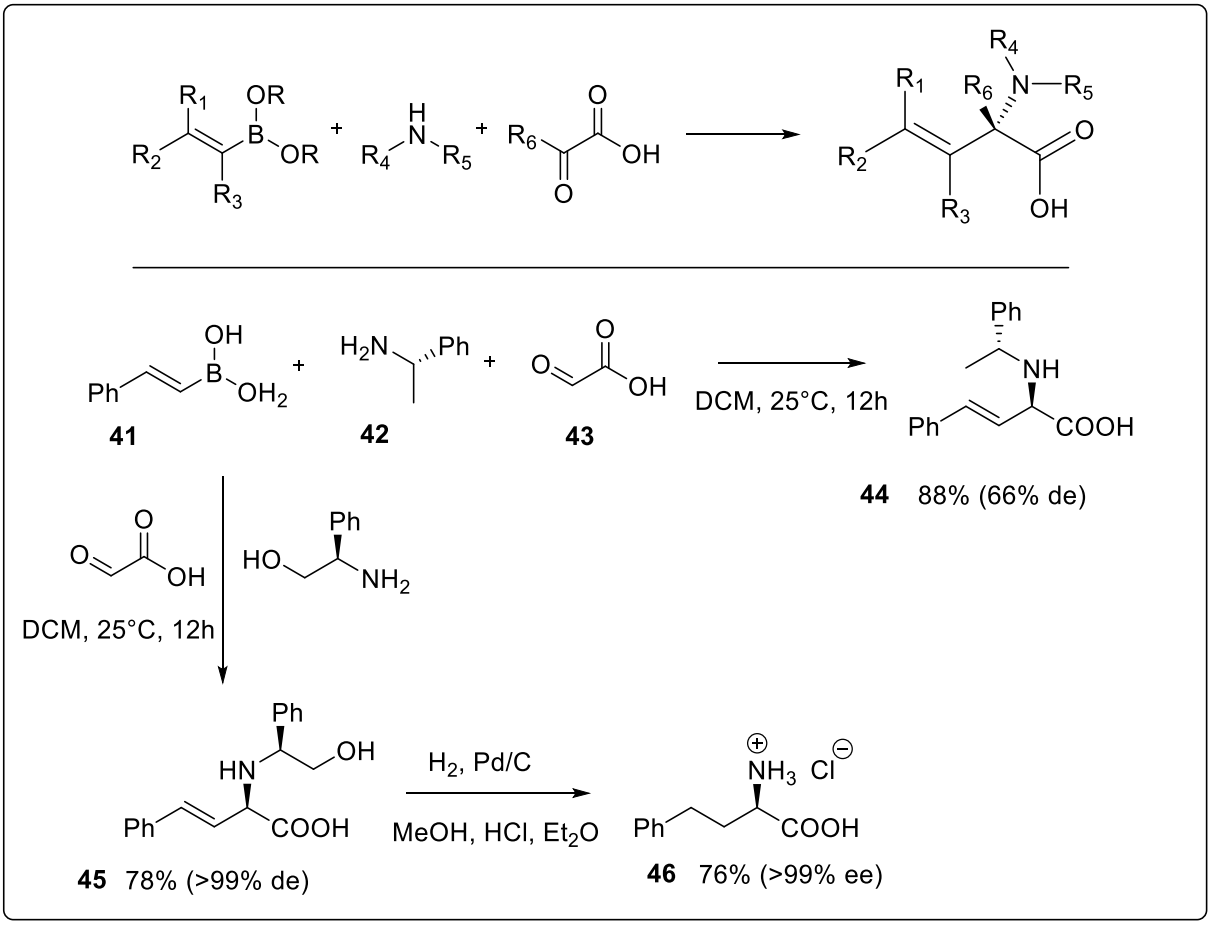
Esquema 9. Metodologia de Zhang para síntese assimétrica por meio da reação de Ugi



Fonte: Adaptado de Zhang et al (2018)

Ainda na classe de reações multicomponentes, a reação de Petasis, reportada em 1993, é outra estratégia para a síntese de aminoácidos. Baseada na reação de Mannich, metodologia esta que também apresenta aspecto multi-reagente e promove a formação de um produto beta-amino carbonílico, a reação de Petasis faz uso de um ácido borônico no lugar dos compostos carbonílicos, nucleófilos comuns na reação de Mannich. A exploração da metodologia com relação à estereosseletividade mostrou que o emprego de aminas quirais promovem excelente seletividade, considerando que a reação ocorre sob temperatura ambiente. O esquema 10 ilustra a reação de Petasis e uma aplicação da mesma, demonstrando sua boa capacidade de síntese de aminoácidos, de maneira assimétrica (PETASIS e AKRITOPOULOU, 1993).

Esquema 10. A reação de Petasis e um exemplo de aplicação



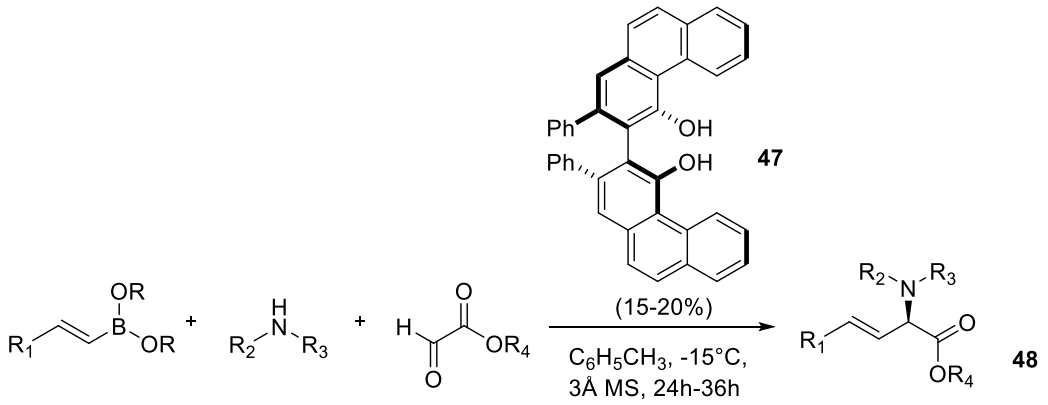
Fonte: Adaptado de Petasis e Akritopoulou (1993)

Diferente das outras reações multicomponentes discutidas, a reação de Petasis promove uma síntese mais direta de aminoácidos não naturais mediante o emprego de aminas diversas, ácido glioxílico e especialmente, da escolha do ácido borônico, característica que se mostrou vantajosa por serem reagentes tolerantes a grupos funcionais diversos e não exigirem condições reacionais severas. Ésteres borônicos também podem ser empregados, embora menores rendimentos sejam observados, o que pode ser atribuído ao impedimento estérico causados por essa estrutura (PETASIS e ZAVIALOV, 1997). Outro aspecto relevante é a reatividade desses compostos, promovida pela preferência de ataque às iminas formadas, diante de funções carbonila que estejam presentes. Além disso esses reagentes têm baixa toxicidade, tornando-os seguros para uso, aspecto importante para atingir critérios de química verde (FYFE e WATSON, 2017).

Através dessa metodologia, Lou e colaboradores desenvolveram uma metodologia assimétrica através do uso de catalisadores quirais usados em reações

de boronatos, aliando as vantagens da reação de Petasis com controle de seletividade para sintetizar alfa-aminoácidos quirais. O esquema 11 mostra a metodologia e algumas estruturas selecionadas obtidas (LOU e SHAUS, 2008).

Esquema 11. Metodologia de Lou empregando catalisadores quirais

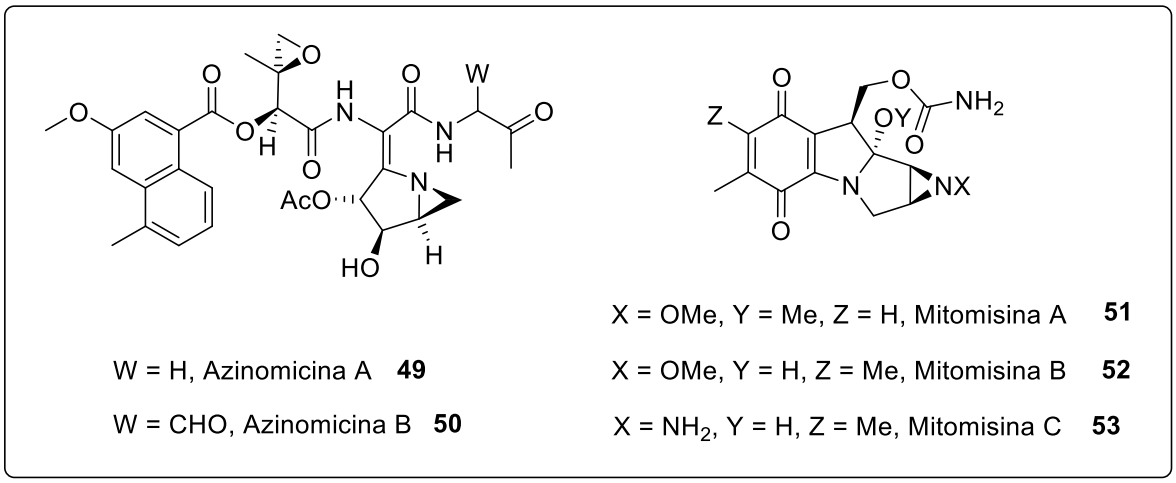


R	R1	R2	R3	R4	rend. (%)	er
CH_3	Ph	Bn	Bn	Et	90	90:10
Et	3-C_4H_3S	Bn	Bn	Et	87	95:5
Et	Ph	Bn	CH_2-COEt	Et	94	95:5

Fonte: Adaptado de Lou e Shaus (2008)

Utilizadas como intermediários na síntese de produtos diversos graças à versatilidade de metodologias que foram desenvolvidas, as aziridinas se tornaram alternativas muito úteis na obtenção de aminoácidos opticamente ativos. Os azaciclopropanos, como também são conhecidos, são estruturas análogas aos epóxidos presentes em diversos produtos naturais, cujas atividades biológicas se mostraram promissoras, entre os quais destacam-se as mitosanas e azomicinas (figura 3). Logo, se tornaram blocos de construção muito importantes na química medicinal e sintética (SWEENEY, 2002).

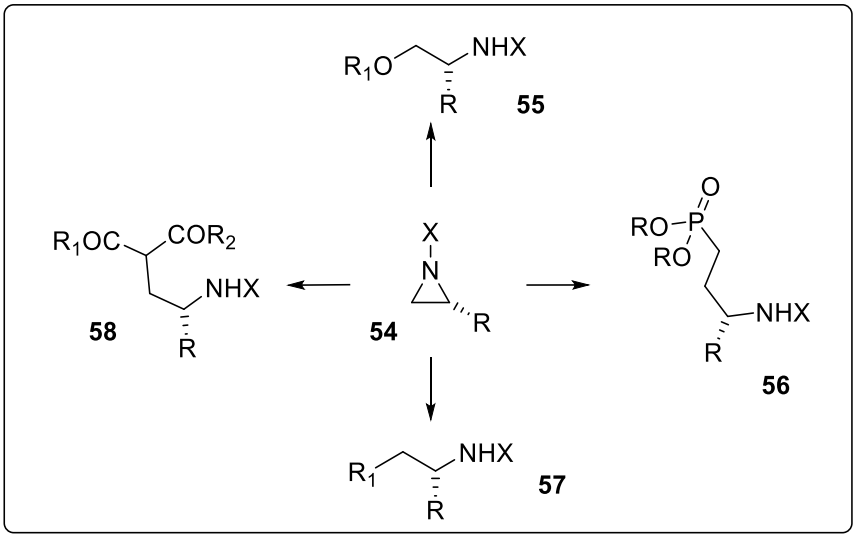
Figura 3. Estruturas de Azinomicinas e Mitosanas



Fonte: Adaptado de Sweeney (2002)

Na maioria das metodologias que as envolvem, as aziridinas são submetidas à abertura de seu anel constituinte, normalmente através de ataque nucleofílico ao carbono menos substituído, dado que esse aspecto é facilitado pela sua estrutura e consequentemente torna as condições reacionais relativamente brandas, permitindo assim, a obtenção de diversas moléculas, de acordo com a necessidade. A figura 4 mostra algumas dessas estruturas, acessíveis através de aziridinas substituídas (SWEENEY, 2002).

Figura 4. Estruturas obtidas através da abertura de aziridinas

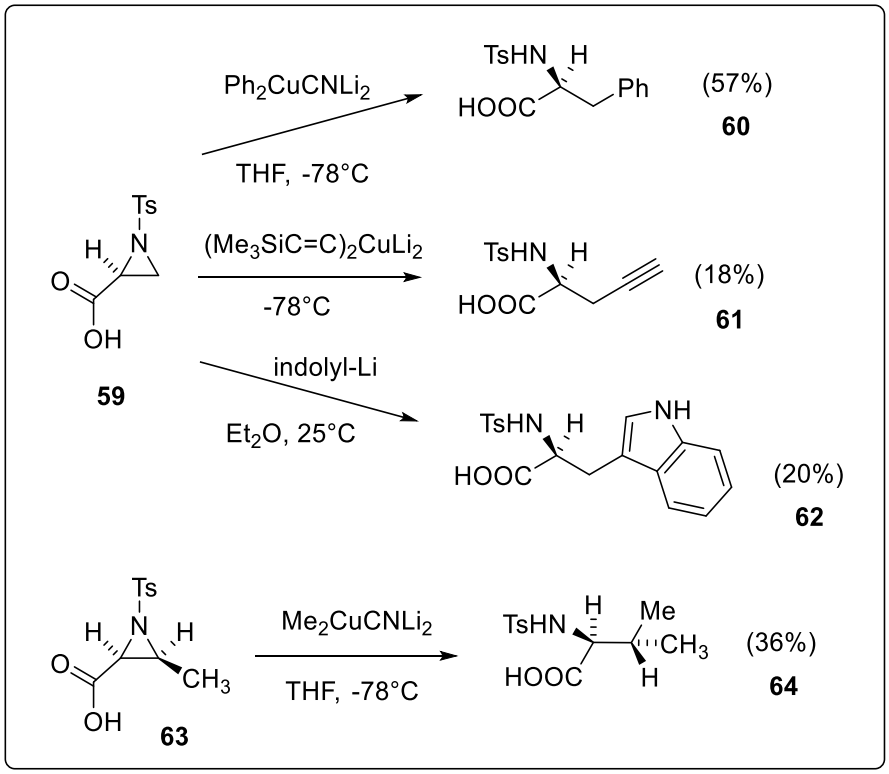


Fonte: Adaptado de Sweeney (2002)

Outro ponto interessante a respeito do emprego dessas moléculas envolve a estereoquímica dos substituintes ligados a elas, normalmente mantida durante a

abertura. O trabalho de Beresford e colaboradores por exemplo, forneceu uma metodologia regioespecífica para a síntese de uma variedade de alfa-aminoácidos opticamente puros ao empregar as aziridinas e cupratos de ordem superior. O esquema 12 mostra algumas das condições utilizadas e os aminoácidos obtidos (BERESFORD et al., 2006).

Esquema 12. Reações de obtenção de aminoácidos catalisadas por cupratos de ordem superior



Fonte: Adaptado de Beresford et al. (2006)

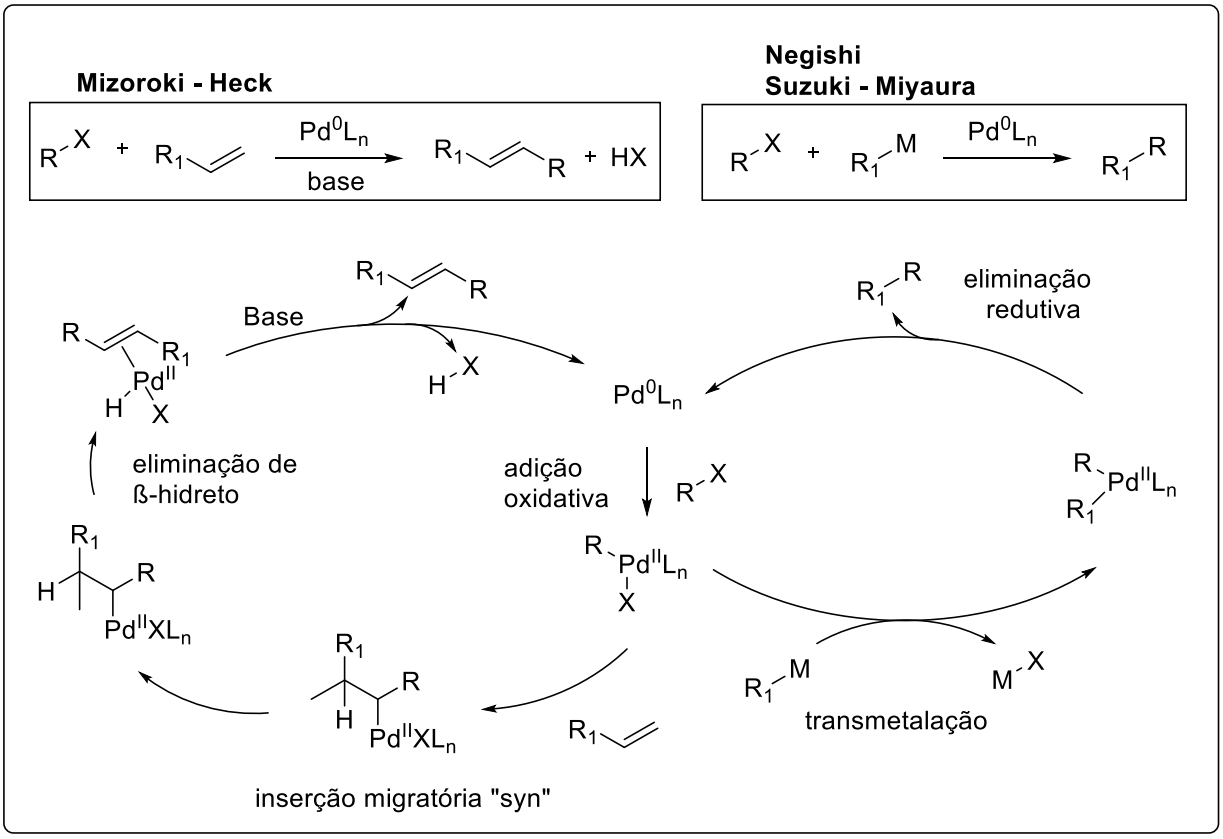
1.3. As reações catalisadas por paládio e sua importância sintética

Embora essas metodologias fossem capazes de promover a síntese de diversas moléculas e aminoácidos úteis, o advento das reações de acoplamento promoveu uma revolução na química orgânica sintética permitindo o alcance a estruturas complexas de maneira efetiva. Apesar da disponibilidade de metodologias para a criação de estruturas, a ligação entre átomos de carbono é reconhecidamente de difícil formação, dado que esses átomos são estáveis. Assim, diferentes metodologias foram desenvolvidas ao longo dos anos e se tornaram ferramentas poderosas em virtude de seu grande potencial para formação dessas ligações entre carbonos, com variados pares de acoplamento e de maneira seletiva e eficiente, permitindo a construção de

estruturas que antes seriam consideradas impossíveis. O surgimento dessas reações não fora apenas relevante para a criação dessas moléculas, sobretudo aquelas de origem natural, notavelmente complexas, mas revolucionaram a química como um todo, impulsionando o desenvolvimento de outras metodologias e a forma de se pensar em síntese (NICOLAOU et al. 2005; COLACOT, SNIECKUS et al., 2012).

Baseadas na química do paládio como catalisador, comum às reações de acoplamento mais conhecidas como as de Mizoroki-Heck, Sonogashira, Suzuki-Miyaura, Stille, Negishi e Tsuji-Trost, estas metodologias se tornaram indispensáveis ferramentas sintéticas. Como reconhecimento de sua importância para a química como um todo, em 2010, Richard Heck, Akira Suzuki e Ei-ichi Negishi, foram laureados com o prêmio Nobel pelo desenvolvimento desse campo e pela sua contribuição à ciência (COLACOT, SNIECKUS et al., 2012). O mecanismo geral para essas reações é ilustrado pelo esquema 13.

Esquema 13. Mecanismo geral de reações catalisadas por paládio

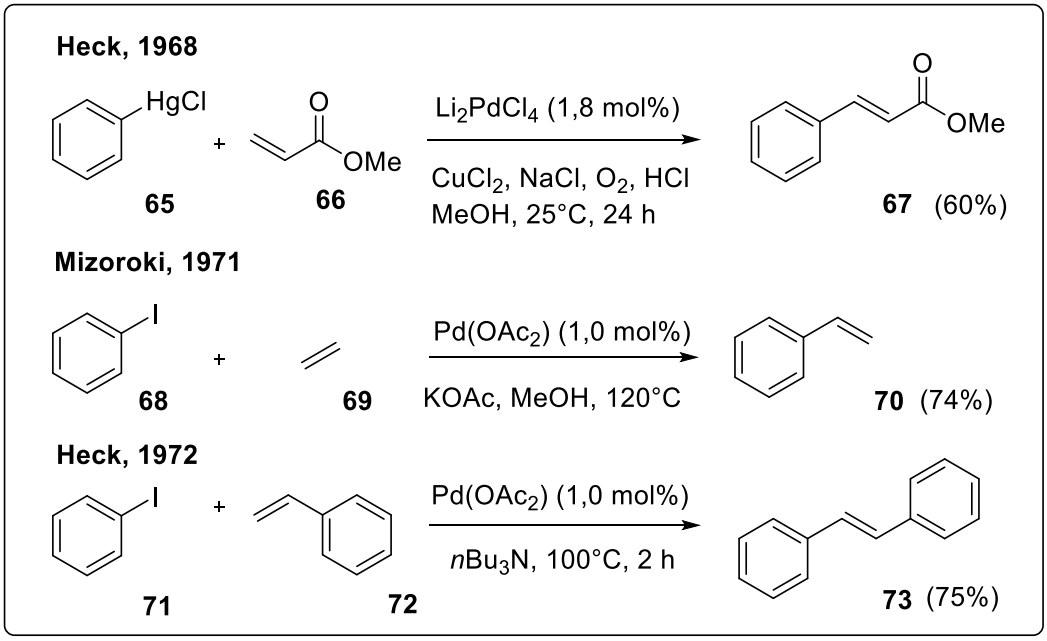


Fonte: Adaptado de Colacot, Snieckus et al. (2012)

Para compreender esse campo da química orgânica sintética, representada por essas três reações tão relevantes, é preciso entender seu histórico. Embora essas metodologias montem as bases da química catalítica do paládio para formação de ligações C-C, os primeiros relatos do uso de metais como agentes mediadores para a ligação entre carbonos datam do século 19 com o trabalho de Glaser, que utilizou o cloreto de cobre para promover um homoacoplamento do difenilacetileno. Mais tarde, o trabalho de Ullman em 1901 foi reconhecido pela característica de promover o acoplamento entre carbonos ligados a halogênios, aspecto que seria explorado nos trabalhos seguintes (COLACOT, SNIECKUS et al., 2012; NICOLAOU et al., 2005). Ainda que os resultados obtidos até então fossem importantes, alguns efeitos colaterais impediam que essa área da química orgânica pudesse florescer, como a baixa seletividade das reações e a consequente formação de subprodutos, a severidade das condições reacionais e a obtenção de apenas produtos homoacoplados (COLACOT, SNIECKUS et al., 2012). Assim, em 1941, com o advento da catálise a partir dos resultados encontrados por Job no ano de 1924, Meerwein e Karasch conseguiram bons resultados, ainda que limitados, mas que levaram a uma constatação fundamental ao promover o acoplamento de moléculas diferentes entre si: o uso de metais em quantidade catalítica (COLACOT, SNIECKUS et al., 2012). Porém, mesmo com todos os avanços obtidos até então, foram os trabalhos de Cadiot-Chodkiewicz e Castro-Stephens que, ao conseguirem formar produtos de acoplamento de maneira seletiva, permitiram formar a base para as reações de acoplamento modernas. E com o desenvolvimento do processo de Wacker, que empregava paládio, um importante passo seria dado em seguida (COLACOT, SNIECKUS et al., 2012).

Após esse longo período, com o conhecimento acumulado até então, os anos 70 foram prósperos para o desenvolvimento das reações de acoplamento como as conhecemos. Entre 1968 e 1973, Heck e Mizoroki conseguiram, independentemente, desenvolver uma reação entre haletos de alquila, arila e benzila com alcenos, catalisada por paládio. Embora tenha sido inicialmente empregado um reagente organomercúrio, este foi substituído por halogênios por serem compostos menos tóxicos e, portanto, mais seguros. O esquema 14 mostra as reações desenvolvidas (COLACOT, SNIECKUS et al., 2012; HECK e NOLLEY, 1972; HECK, 1968; MIZOROKI et al., 1971).

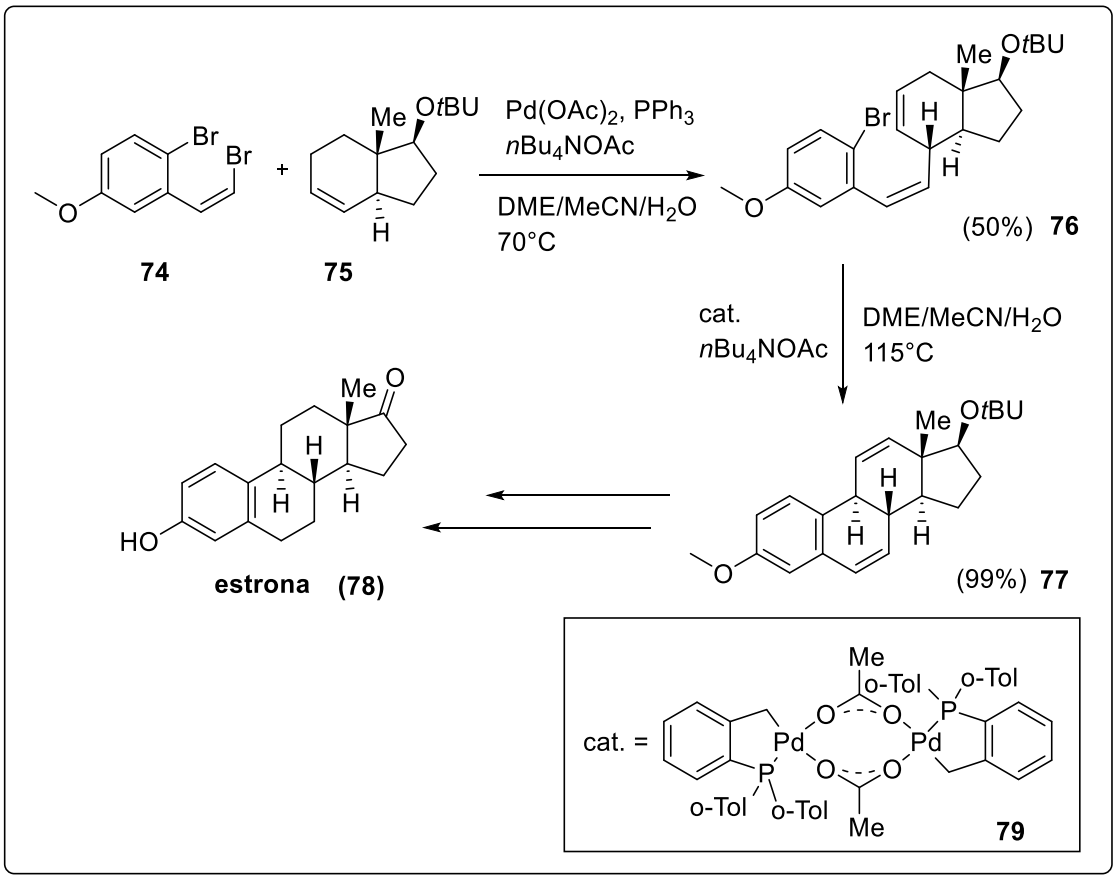
Esquema 14. As reações desenvolvidas por Richard Heck e Mizoroki



Fonte: Adaptado de Heck e Nolley (1972), Heck (1968), Mizoroki et al. (1971)

Graças à sua aplicabilidade e tolerância química, o advento da reação de Mizoroki-Heck promoveu grandemente o avanço da síntese orgânica e da química, com diversos trabalhos publicados e novas estruturas sintetizadas tanto na academia quanto industrialmente, sobretudo na indústria farmacêutica (NICOLAOU et al., 2005). Com o tempo, muitas outras melhorias seriam implementadas para aumentar a efetividade da metodologia, desenvolvendo seu potencial à plenitude. Como exemplo de aplicação no campo da síntese total, a reação de Heck tem destaque na obtenção do hormônio natural estrona, um hormônio natural biosintetizado no ovário. O esquema 15 ilustra a rota sintética desenvolvida por Tietze e colaboradores, que utiliza a reação de Heck em duas etapas (NICOLAOU et al., 2005; TIETZE et al., 1998).

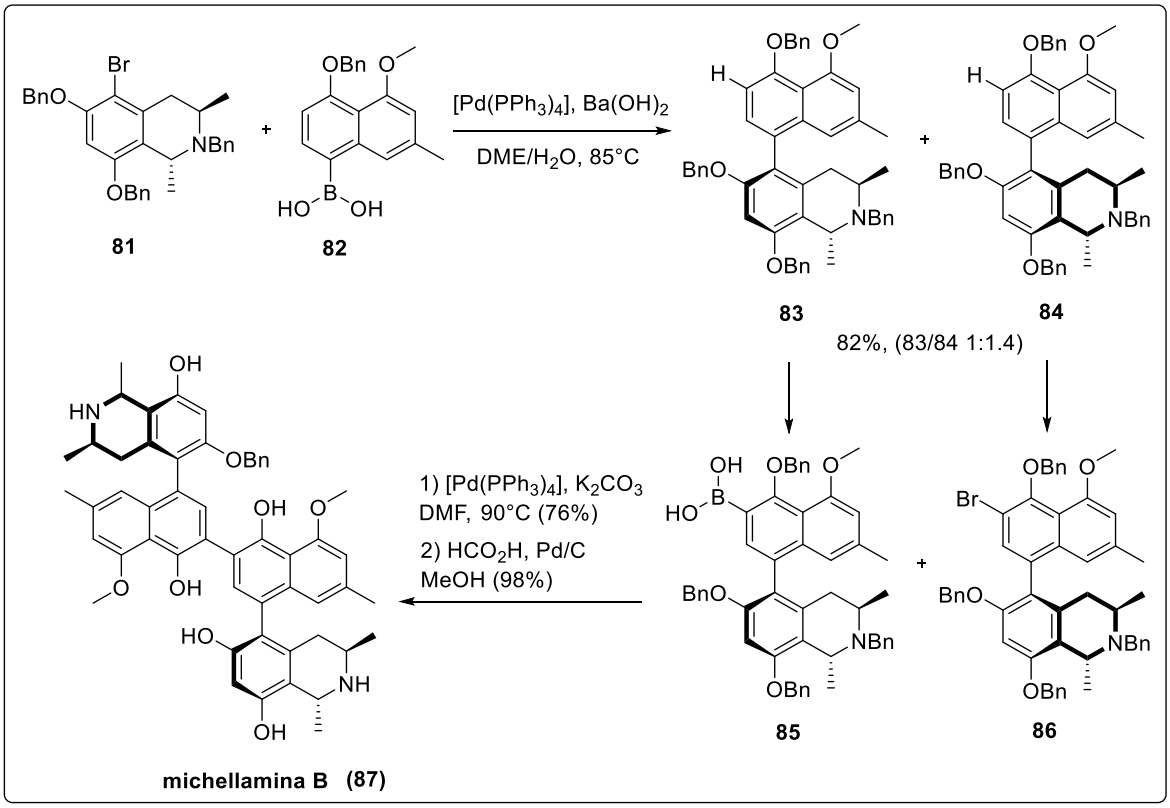
Esquema 15. Síntese da estrona por Tietze e colaboradores



Fonte: Adaptado de Tietze (1998)

Também desenvolvida no período, em 1979, Suzuki relatou os primeiros resultados de sua metodologia, com base nos dados expostos por Negishi e Heck acerca da reatividade do boro (COLACOT, SNIECKUS et al., 2012). Hoje conhecida como acoplamento de Suzuki-Miyaura, a reação se tornou muito explorada por suas características reacionais brandas e pela estabilidade dos reagentes organoboro frente ao ar e à umidade, aspectos altamente apreciados pela indústria (COLACOT, SNIECKUS et al., 2012). Ao longo do tempo, modificações do reagente organoboro e a seleção da base mais correta mostraram a capacidade da metodologia de se tornar ainda mais seletiva, ampliando sua aplicabilidade (COLACOT, SNIECKUS et al., 2012; MALUENDA e NAVARRO, 2015). Um exemplo interessante de aplicação da reação de Suzuki é a síntese total da Michellamina B, um alcaloide natural com propriedades contra o vírus do HIV cuja estrutura foi obtida pelo grupo de Dawson, dado no esquema 16 (HOBBS et al 1996; NICOLAOU et al., 2005). Esse exemplo é interessante por mostrar a capacidade dessa metodologia em formar ligações entre anéis, superior a outras metodologias (NICOLAOU et al., 2005).

Esquema 16. Síntese da Michellamina B por Dawson e colaboradores



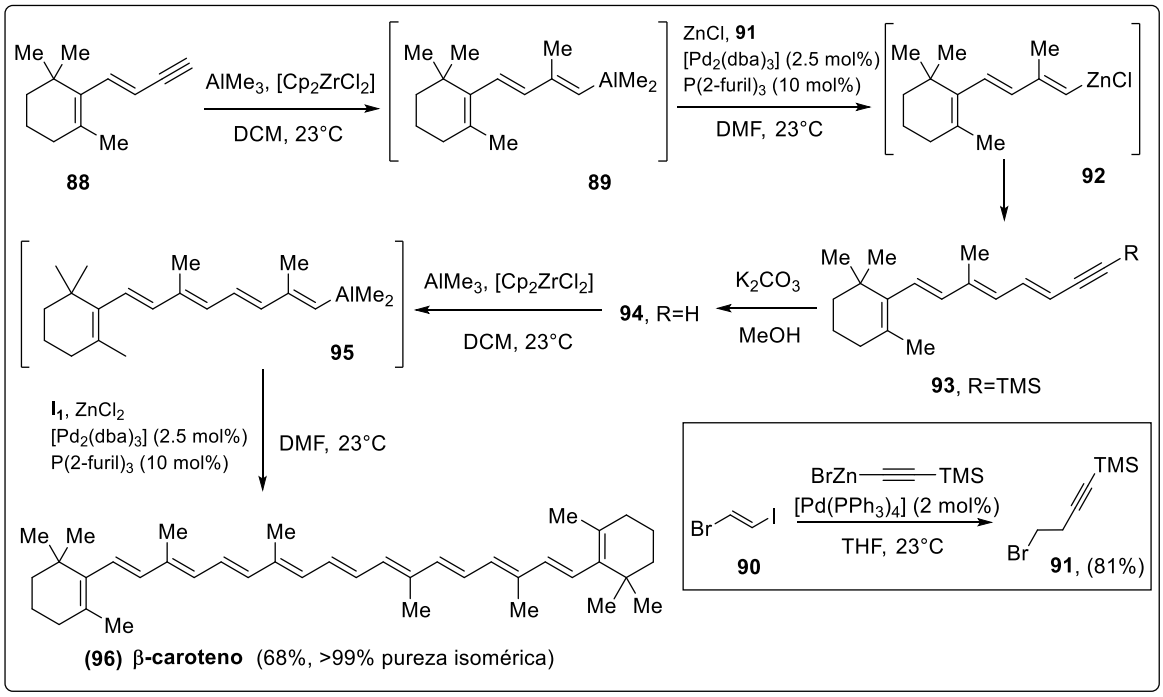
Fonte: Adaptado de Hobbs (1996)

Em 1976, Negishi publicou os primeiros trabalhos acerca do desenvolvimento de uma nova reação de acoplamento, empregando compostos de níquel como catalisadores e reagentes organoaluminio (COLACOT, SNIECKUS et al., 2012). Esse último aspecto é importante e fora observado durante o desenvolvimento de outras reações de acoplamento, sobretudo por Karasch. Diferindo da metodologia de Mizoroki-Heck, o acoplamento de Negishi incorpora uma transmetalação da espécie organometálica introduzida, promovendo a formação da ligação entre o par de acoplamento e regenerando o catalisador para um novo ciclo catalítico (COLACOT, SNIECKUS et al., 2012). Embora os primeiros resultados indicassem que a metodologia era funcional, o emprego do paládio levou a uma melhor estereosseletividade. A substituição do alumínio pelo zinco em estudos posteriores também produziu resultados relevantes, dado que reagentes organozinco são nucleófilos de elevada reatividade em reações de acoplamento e são pouco tóxicos, além de serem preparados por diferentes procedimentos (NICOLAOU et al., 2005). Além disso, a troca do metal promovida nesses estudos permitiu identificar o potencial do boro e do estanho, mostrando que outros metais poderiam ser aplicados na

formação do componente organometálico para a etapa de transmetalação, inspirando pesquisadores a investigarem esses elementos (COLACOT, SNIECKUS et al., 2012).

Apesar de sua potencialidade, a reação de Negishi permaneceu por um tempo à sombra de outras reações de acoplamento, como a de Suzuki e Stille (NICOLAOU et al., 2005). No entanto, a metodologia se mostrou bastante versátil com relação aos grupos funcionais empregados e requerendo condições reacionais brandas (KING et al, 1977). Um destaque de sua aplicação é a síntese do betacaroteno por Negishi e seu grupo, ilustrado no esquema 17. Altamente eficiente, a rota desenvolvida foi capaz de promover a síntese do alvo com 99% de pureza estereoisomérica, 68% de rendimento na etapa final e 41% de rendimento global (NICOLAOU et al., 2005; ZENG e NEGISHI, 2001).

Esquema 17. Síntese de β-caroteno por Negishi e colaboradores



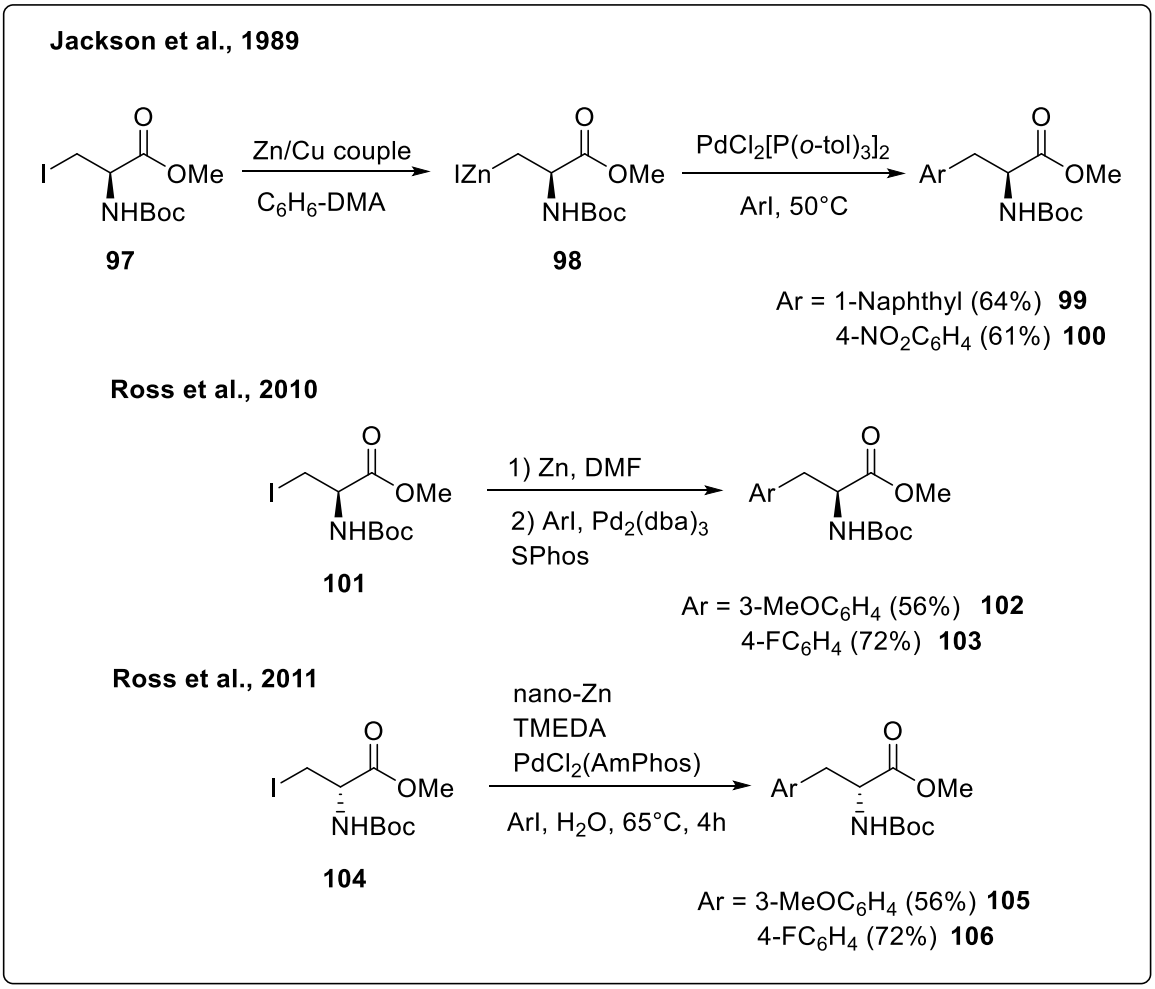
Fonte: Adaptado de Zeng e Negishi (2001)

Com o desenvolvimento da metodologia, o acoplamento cruzado de Negishi se tornou uma técnica poderosa para a síntese de aminoácidos não naturais. Com o trabalho pioneiro de Jackson em 1989, que empregou um derivado da serina para a formação de um intermediário organozinco, foi possível a obtenção desses compostos com bons rendimentos e de maneira estereoespecífica, sobretudo para aminoácidos

aromáticos, permitindo o acesso a variados alfa-aminoácidos derivados da fenilalanina (BRITTAIN e COBB, 2018).

Além da síntese de alfa-aminoácidos, a metodologia desenvolvida por Jackson também permitiu a obtenção de beta e gama-aminoácidos e se mostrou bastante tolerante a substratos diversos. Melhorias, como a utilização de ligantes, capazes de estabilizar o paládio com consequente aumento do rendimento e o emprego de TMEDA permitindo a reação em água, tornaram a metodologia ainda mais versátil e importante para a síntese de aminoácidos e derivados. O esquema 18 ilustra a metodologia desenvolvida por Jackson e colaboradores, bem como metodologias aprimoradas (BRITTAIN e COBB, 2018; JACKSON et al., 1989; ROSS et al., 2010; ROSS et al., 2011).

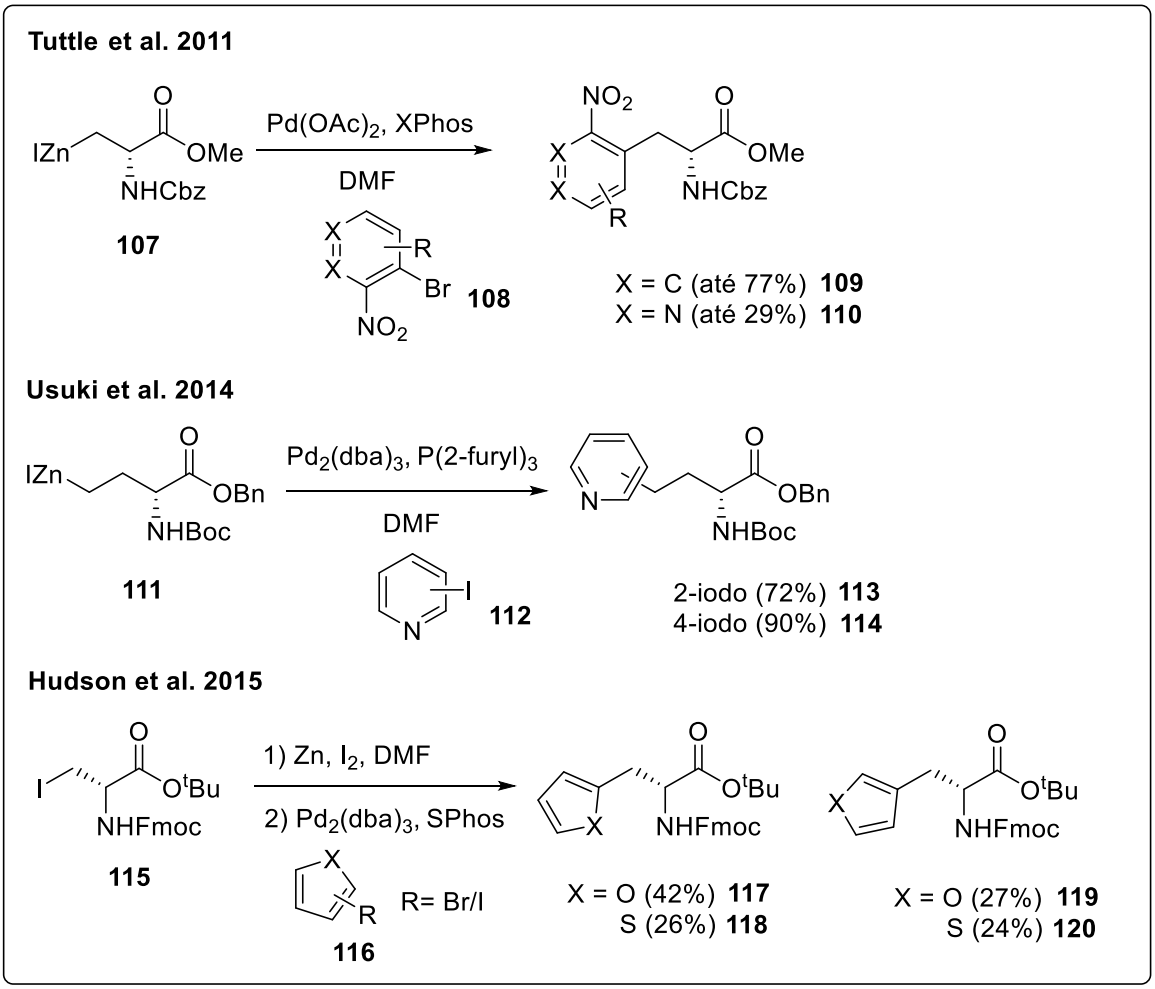
Esquema 18. Metodologias estereoespecíficas desenvolvidas por Jackson e colaboradores



Fonte: Adaptado de Jackson et al (1989), Ross et al (2010, 2011)

Aminoácidos com núcleos heteroaromáticos também podem ser obtidos através da reação acoplamento de Negishi. Göbel relatou em seu trabalho a síntese de alguns desses compostos ao incluir heteroaromáticos como a quinolina e a pirimidina como substratos, com ótimos rendimentos (SUHARTONO et al, 2010). Com o tempo, trabalhos como o de Tuttle, Usuki e Cobb trouxeram mais resultados, empregando metodologias baseadas no trabalho de Jackson. O esquema 19 resume algumas dessas metodologias e seus resultados (BRITTAIN e COBB, 2018; HUDSON et al., 2015; TUTTLE et al., 2011; USUKI et al., 2014).

Esquema 19. Metodologias desenvolvidas por Tuttle, Usuki e Cobb

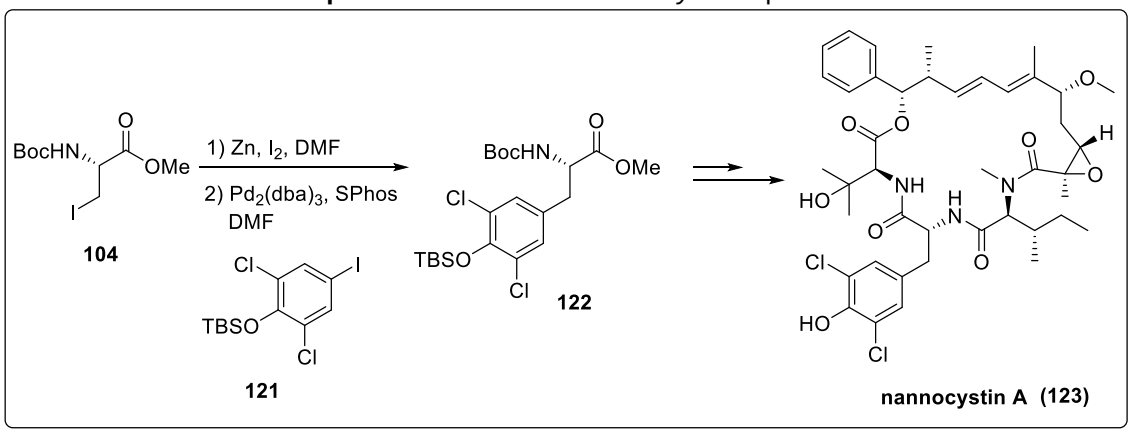


Fonte: Adaptado de Hudson et al (2015), Tuttle et al (2011) e Usuki et al (2014)

Produtos naturais com estruturas contendo aminoácidos foram beneficiadas pela metodologia de Jackson, permitindo a síntese desses produtos de maneira mais efetiva. A síntese da "*nannocystin A*", molécula que mostrou relevantes resultados para a inibição do crescimento de células tumorais, reportada por Liu em 2017, faz

uso do acoplamento de Negishi para a síntese de um derivado de fenilalanina importante para a rota sintética. O esquema 20 ilustra a síntese da *nannocystin A* (BRITTAIN e COBB, 2018; LIU et al., 2017).

Esquema 20. Síntese da *nannocystin A* por Liu



Fonte: Adaptado de Liu et al. (2017)

Como é possível observar, os estudos acerca dessas diferentes metodologias reacionais ao longo de 40 anos renderam diversas outras descobertas e fomentaram o entendimento de aspectos importantes para o avanço da química como um todo. Além da formação de ligações entre carbonos, também foi possível desenvolver a formação de ligações heterogêneas, como mostrado por Miyaura, que ampliou estudos de ligações carbono-boro e Buchwald e Hartwig que desenvolveram metodologias de acoplamento formando ligações carbono-nitrogênio, diversificando o alcance das reações de acoplamento para a química sintética (COLACOT, SNIECKUS et al., 2012).

2. OBJETIVOS GERAIS

O presente trabalho visou o estudo e desenvolvimento de uma via sintética da caramboxina (**1**) e sua caracterização estrutural por análises espectroscópicas e por meio da comparação com os dados já obtidos do produto natural. Sua síntese, além de fornecer material para estudos a serem realizados na FCFRP e FFCLRP, sob coordenação dos Professores Norberto P. Lopes e Anderson de Oliveira respectivamente, bem como para os estudos de mecanismos de ação a serem desenvolvidos nas dependências da FMRP-USP, sob coordenação do Prof. Dr. Norberto Garcia-Cairasco, poderá ser uma ferramenta útil para estudos multidisciplinares envolvendo profissionais da área da saúde, química e biologia, a partir do entendimento dos mecanismos toxicológicos da caramboxina.

Além disso, o estabelecimento de uma via de síntese do ativo e a caracterização completa do mecanismo de ação abre perspectivas para a comercialização de um novo indutor de epilepsia em modelos experimentais, algo de grande interesse na área de investigação do sistema nervoso central.

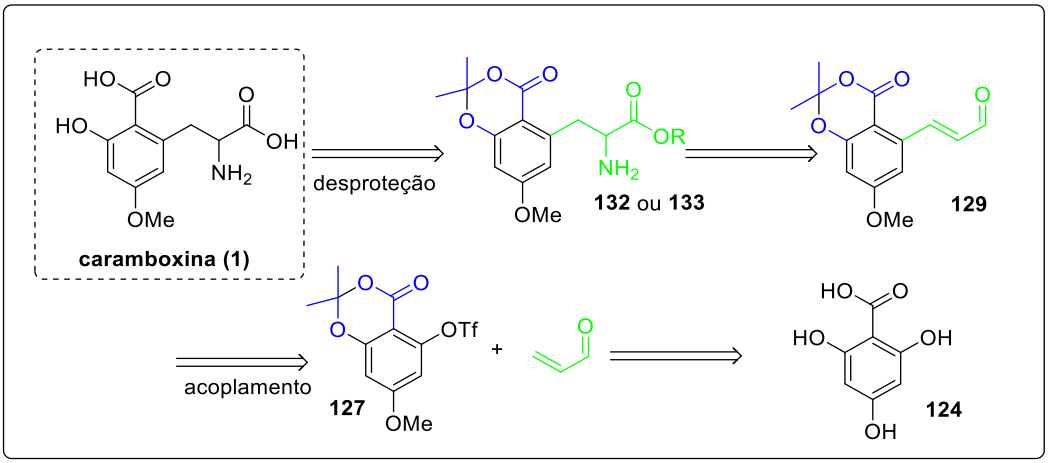
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Abordagem inicial para a síntese da caramboxina

Para atingir os objetivos estabelecidos nesse projeto, uma análise retrossintética inicial do composto **1** foi realizada para melhor entendimento das conectividades mais importantes, tendo como etapa chave a inserção do grupamento que possui a conectividade alanina no anel aromático. Como o composto **1** é altamente funcionalizado, o uso de grupos protetores em uma ou mais etapas se fez necessário.

É sabido que etapas de proteção-desproteção são custosas e muitas vezes dificultam a obtenção do produto desejado. Nesse sentido, as propostas de síntese que envolvem estratégias de proteção e desproteção de grupos funcionais foram racionalizadas de modo a envolver o menor número de etapas possíveis. Assim, em alguns casos, respeitando a quimiosseletividade, planejou-se o uso de grupos que pudessem proteger variadas funções químicas (Esquema 21).

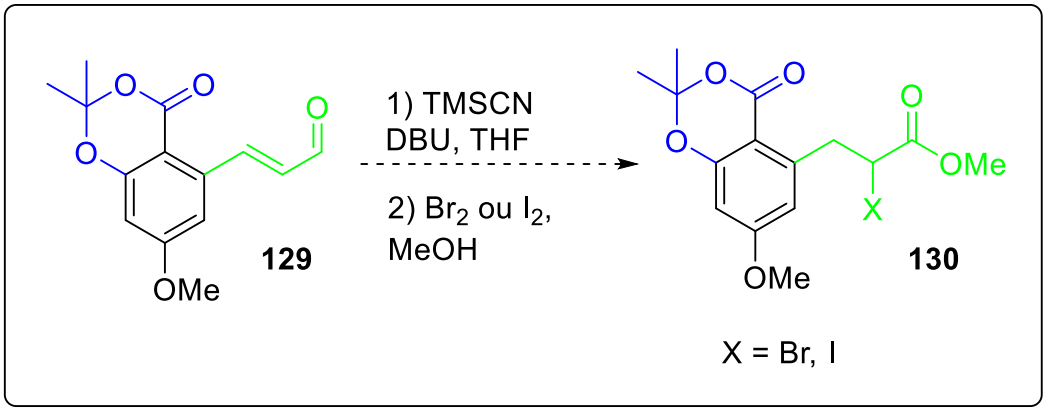
Esquema 21. Primeira análise retrossintética de **1**.



Através desse planejamento, foi empregada uma reação de acoplamento cruzado de Heck entre o intermediário **127** e acrilaldeído, etapa esta que seria a chave da rota sintética desenvolvida, visando o emprego do produto obtido desta reação de acoplamento na metodologia desenvolvida por Fukuyama e colaboradores, para obtenção de derivados halogenados na posição α-carbonila a partir de aldeídos α,β insaturados (KAISE et al., 2014). Essa metodologia utiliza o cianeto de trimetilsilano e DBU para formação de um intermediário cianohidrino-sililéter. Esse intermediário seria reagido com bromo ou iodo molecular como eletrófilos, seguido da adição de metanol para formação dos ésteres halogenados. Essa etapa seria vantajosa pela facilidade

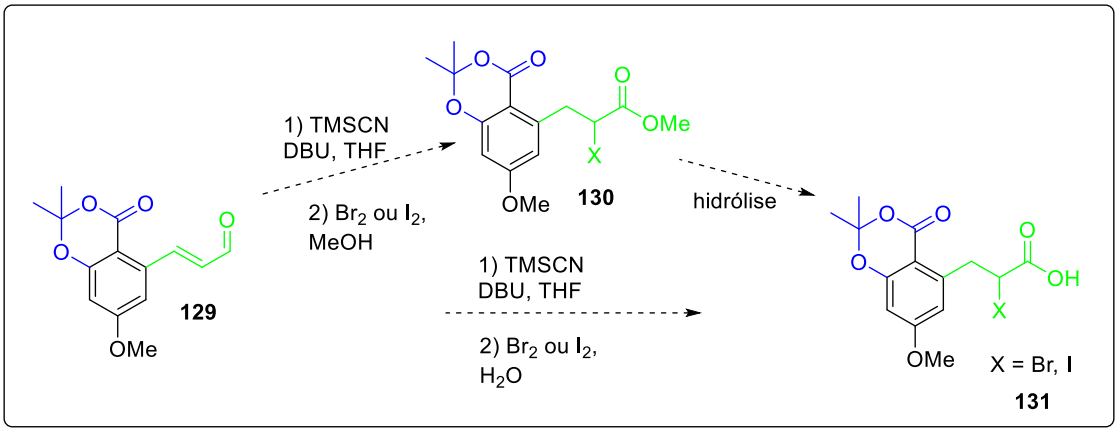
de obtenção do composto **130** (esquema 22), intermediário da síntese de **1**, através de uma única etapa reacional.

Esquema 22. Proposta para síntese de halogênios do tipo **1**



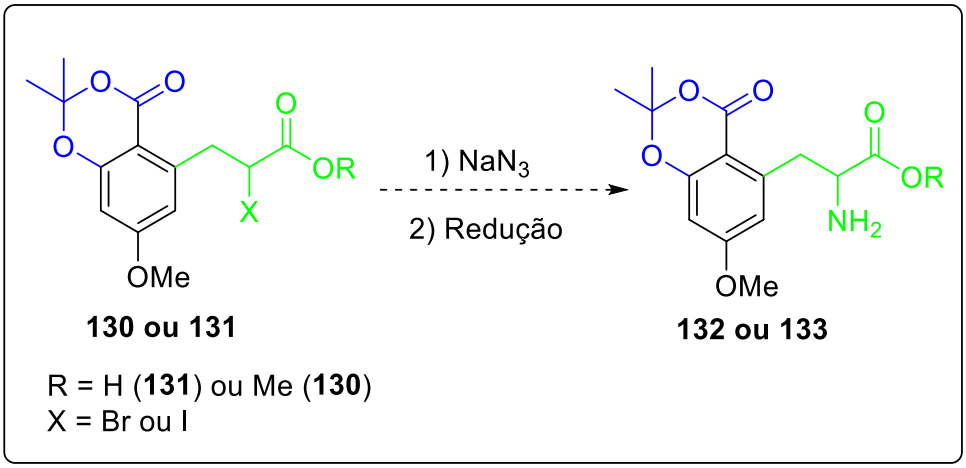
Uma inovação nessa etapa reacional consistiria na substituição do metanol utilizado na segunda etapa da reação por água, para a obtenção direta do ácido carboxílico **131** (Esquema 23). No entanto, uma vez constatado que a obtenção desse derivado fosse inviável, é sabido que a hidrólise do éster **130** consistiria em uma etapa de desproteção trivial.

Esquema 23. Possíveis estratégias para obtenção do derivado ácido **131**.



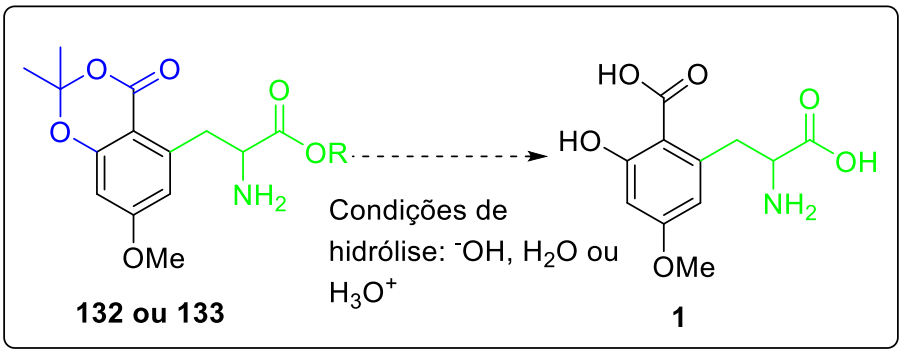
Com o derivado **130** ou **131** em mãos, a próxima etapa consistiria na obtenção do derivado amino na posição α-carboxila. Essa transformação poderia ser realizada por uma reação de substituição dos átomos de halogênio (Br ou I). A substituição do grupo halogênio para amino poderia ser realizado tanto no derivado éster **130** quanto no ácido carboxílico **131**, em condições de substituição nucleofílica, fornecendo os aminoácidos **132** ou **133** (Esquema 24).

Esquema 24. Proposta para obtenção de aminas do tipo **132** ou **133**



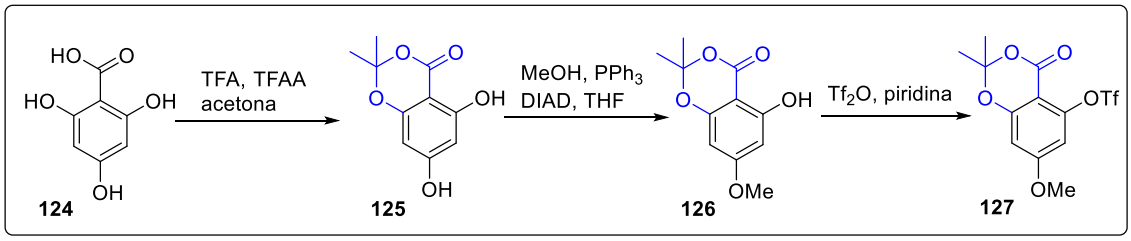
A desproteção da lactona e a eventual necessidade de transformação do éster metílico em ácido carboxílico deveriam levar à caramboxina (Esquema 25).

Esquema 25. Proposta para obtenção do composto **1**.



Assim, após a definição do planejamento sintético, iniciou-se sua execução com a construção do bloco **127**, a partir do material de partida **124**, com base na literatura (BOLTE et al., 2015). O esquema 26 ilustra a etapas reacionais que levaram à síntese do bloco **127**.

Esquema 26. Etapas para síntese do bloco de construção **127**



Iniciou-se então a síntese do triflato **127**, com a reação de formação da dioxinona **125** através da reação do ácido 2,4,6-trihidroxibenzóico com acetona em meio contendo anidrido e ácido trifluoroacético, formando a função cetal. Após a remoção dos ácidos residuais por destilação e das etapas de extração e purificação por cromatografia em coluna, obtivemos um rendimento de 92% na obtenção do composto **125**. Os benefícios no uso da dioxinona se estendem ao fato de ser um grupo protetor, mantendo a função fenol na posição 2 também protegido; o caráter diretor do grupo garante a metalação na posição 6 (na hipótese de sintetizar análogos à **1** através desta metodologia); a compatibilidade química em relação às outras etapas reacionais envolvidas; estas são algumas vantagens que podem ser listadas.

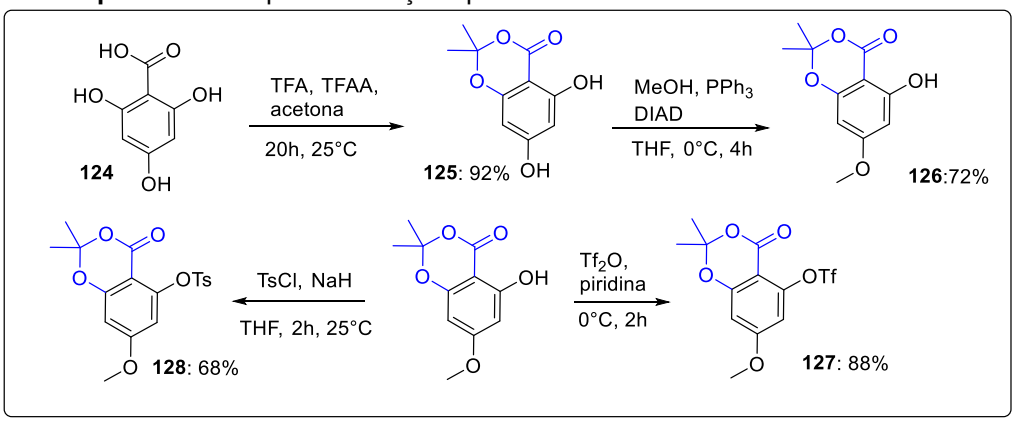
Em seguida, a partir da obtenção do intermediário **125**, este foi convertido no composto **126** através de uma reação de substituição nucleofílica aromática com metanol do tipo Mitsunobu, a qual levou à metilação regiosseletiva da hidroxila na posição 4. A reação de Mitsunobu permite a transformação seletiva de álcoois primários e secundários em variadas funções, com a possibilidade de inversão da estereoquímica do composto (MITSUNOBU, 1981). Dessa forma, empregou-se o composto **125** em reação com trifenilfosfina, DIAD e metanol em THF como solvente. Esta reação não exigiu etapa de extração, sendo diretamente submetida à purificação, obtendo-se um rendimento de 79%.

Na última etapa, para a obtenção do triflato, o composto **126** foi reagido com anidrido tríflico em piridina. Após extração e purificação por cromatografia em coluna, foi obtido o produto **127** com 85% de rendimento. Afim de testar uma alternativa menos custosa para a obtenção de um intermediário com bom grupo de saída para o uso nas reações de acoplamento, foi empregada uma reação para obter o tosilato **128** (DE MELLO et al., 2015). Para tanto, o composto **126** foi reagido com hidreto de sódio para formação do alcóxido e então reagido com cloreto de tosila para a formação do

tosilato. Após extração e purificação por cromatografia em coluna, este intermediário foi obtido com 68% de rendimento.

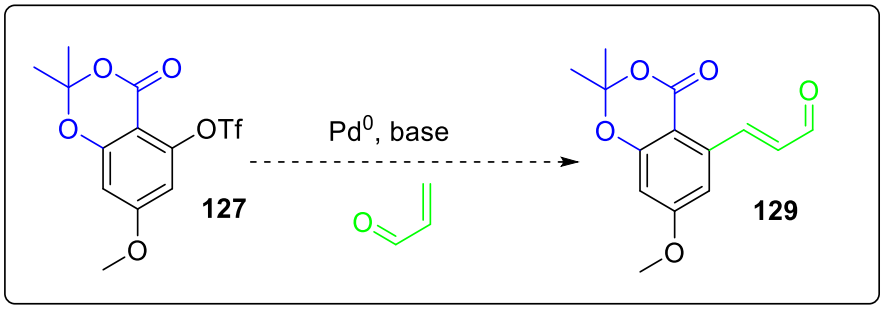
As caracterizações dos blocos de construção foram feitas com base nos resultados de análise por ressonância magnética nuclear, em comparação com os dados presentes nas respectivas referências, confirmando as estruturas sintetizadas. O esquema 27 resume as etapas citadas para a síntese do bloco **127**, juntamente com as condições reacionais empregadas e rendimentos obtidos.

Esquema 27. Etapas e condições para síntese do triflato **127** e tosilato **128**.



Assim, diante dos bons resultados obtidos para a construção do intermediário **127**, foi iniciada a etapa de acoplamento cruzado do tipo Heck com acrilaldeído (GHOSH & PRADHAN, 2010) para levar à inserção do grupamento glicina no anel aromático, para formação do intermediário 129 (esquema 28).

Esquema 28. Proposta para obtenção do intermediário **129**.

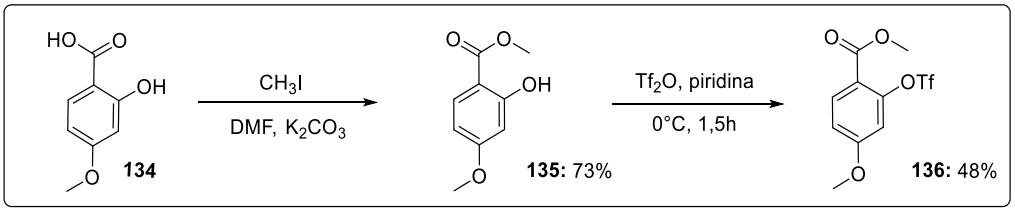


Como citado anteriormente, esta seria a etapa chave da rota sintética planejada e, portanto, afim de obter sucesso na obtenção de **129**, utilizamos as melhores

condições reacionais para o acoplamento, investigadas em estudos preliminares entre o substrato **127** com acrilato de metila.

Para tanto, foi empregado um substrato modelo, obtido a partir do ácido 2-hidroxi-4-metoxibenzóico (**134**), o qual passou por uma reação de esterificação com iodometano, que após extração e purificação por cromatografia em coluna, levou ao éster **135** com 73% de rendimento. Posteriormente, o triflato **136** foi obtido com 48% de rendimento, pela reação entre **135** e anidrido tríflico em piridina (esquema 29).

Esquema 29. Síntese do triflato modelo.



Em seguida, as melhores condições para conduzir o acoplamento cruzado entre o triflato **136** com acrilato de metila (esquema 30) foram investigadas, variando-se parâmetros como solvente, catalisador, ligante e temperatura, tomando como base algumas referências da literatura (KÜMMERLE et al, 2009; CABRI et al, 1993; GHOSH & PRADHAN, 2010). Após a realização de testes, verificou-se que as melhores condições foram aquelas encontradas na entrada 5 (Tabela 1), a qual foi realizada em micro-ondas e levou a uma conversão de 99% e um rendimento de 80%.

Esquema 30. Acoplamento cruzado de Heck com o triflato modelo.

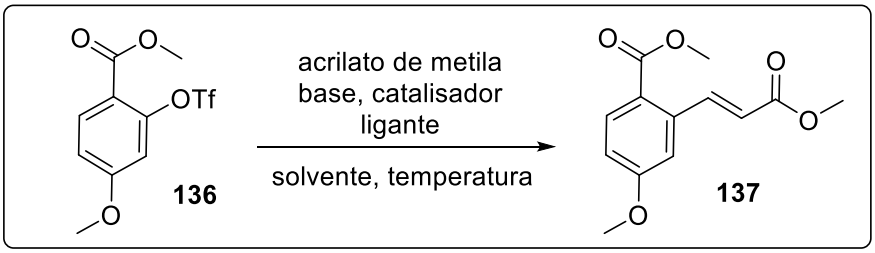


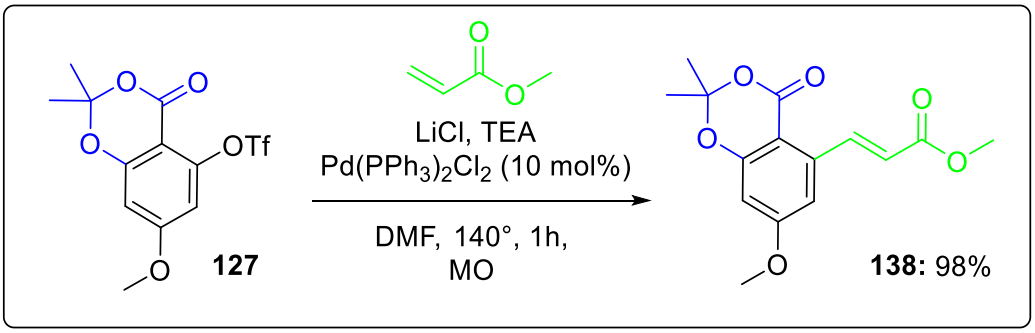
Tabela 1. Condições reacionais para o acoplamento cruzado de Heck

Entrada	Acrilato de metila (equiv.)	Catalisador (mol%)	Ligante	Temp. (°C)	Solvente	Conversão (%)[a]
1	5,0	$Pd(OAc)_2$ (5)	fenantrolina	100	DMF	NR
2[b]	1,5	$Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (5)	PPh_3	120	CH_3CN	NR
3[c]	2,0	$Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (10)	-	120	DMF	5
4[c]	5,0	$Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (10)	-	120	DMF	65
5[b,c]	5,0	$Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (10)	-	140	DMF	99

NR = não reagiu, [a]conversão cromatográfica por CG-FID;
[b]reação realizada no micro-ondas;
[c]utilizou-se LiCl como aditivo.

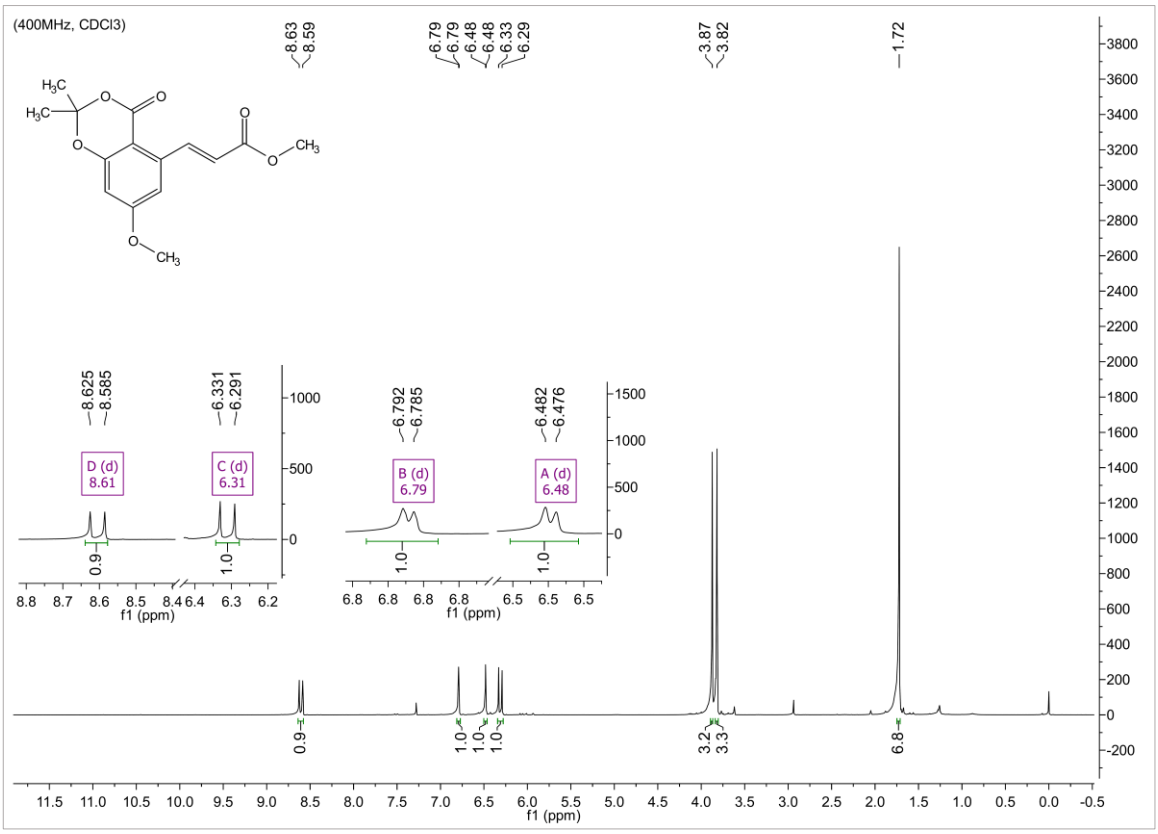
Com os dados fornecidos através desses estudos de otimização, as melhores condições encontradas foram aplicadas na reação de acoplamento cruzado de Heck entre o triflato **127** e o acrilato de metila. Após extração e purificação por cromatografia em coluna, obteve-se o produto **138**, com 98% de rendimento (esquema 31).

Esquema 31. Acoplamento cruzado de Heck com o triflato **127**.



A atribuição de configuração *E* ao produto **138** pode ser feita com base no resultado de análise por ressonância magnética nuclear, dado que o valor da constante de acoplamento *J* da ligação dupla, cujo valor encontrado foi de 15,9 Hz, é tipicamente atribuído à essa configuração. O espectro de hidrogênio do referido composto, com expansões dos sinais acoplados, mostra os deslocamentos dos hidrogênios da ligação dupla (identificados como C e D), confirmando o valor da constante de acoplamento *J* (figura 5).

Figura 5. Espectro de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) do composto **138**



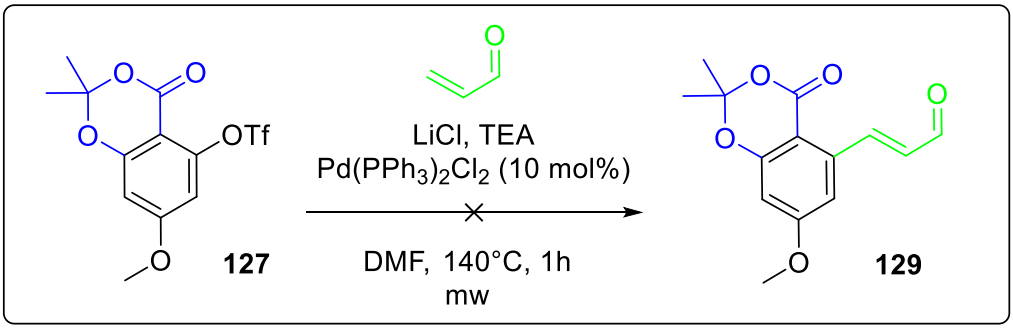
A mesma reação foi também testada sob condições de aquecimento convencional (manta de aquecimento). Apesar da formação do produto **138**, o baixo rendimento obtido de 11% e o longo tempo de reação (20 horas), mostraram que a síntese em reator de micro-ondas foi bem mais eficiente.

Com o objetivo de avaliar a reatividade do tosilato **128**, esse também foi submetido a reação de acoplamento com acrilato de metila, contudo quando as mesmas condições de acoplamento foram empregadas, a avaliação dos dados de CG e de RMN indicaram que o produto desejado não foi obtido, restando apenas o substrato de partida, que foi recuperado.

Então, a partir desses resultados, foram feitos os primeiros testes para o acoplamento com o acrilaldeído, usando as condições desenvolvidas no estudo de otimização e empregando-se o triflato **127** (esquema 31). Contudo, não houve sucesso nesta etapa, dado que a reação não formou o produto desejado. Observou-se que, apesar do consumo de material de partida, foram obtidos apenas subprodutos não isoláveis, conforme avaliado através de CG. É possível atribuir esse resultado à reatividade do acrilaldeído, que passa por uma polimerização quando é submetido às

condições reacionais características do acoplamento cruzado de Heck ou por sua volatilidade, impedindo que pudesse reagir com o intermediário **127** (NEJJAR et al, 2003). Outras condições foram consideradas e testadas, como troca do solvente e catalisador, no entanto, tais modificações não indicaram melhoras, sendo obtidos resultados similares àqueles dos primeiros testes realizados.

Esquema 32. Acoplamento cruzado de Heck com o acrilaldeído

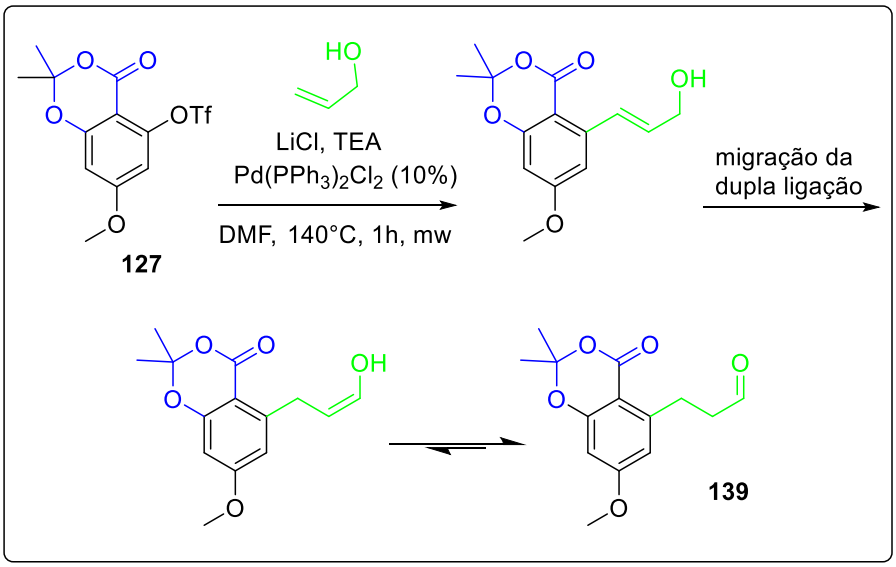


Dessa forma, diante dos resultados negativos na etapa chave da rota sintética proposta, foi levantada a hipótese de uso do álcool alílico no acoplamento de Heck, como alternativa ao acrilaldeído. A escolha deste alceno se deu pela possibilidade de obter o mesmo produto planejado através do acoplamento entre o mesmo e o triflato **127**, com posterior reação de oxidação da função álcool, resultando no intermediário **129**, permitindo então manter as etapas posteriores como foram inicialmente planejadas. Dessa maneira, este acoplamento foi testado empregando o reagente citado nas mesmas condições consideradas para os acoplamentos anteriores.

Embora tenha-se obtido um produto com rendimento satisfatório de 58%, análises espectrométricas indicaram que este não possuía a ligação dupla, sendo então caracterizado o aldeído **139**. De fato, é conhecido na literatura que a presença de intermediários de Pd^{II} podem causar migrações em olefinas durante etapas de eliminação β de hidreto (BERTHIOL et al, 2006; WERNER e SIGMAN, 2011). Assim, o isolamento de **139** pode ser explicado pela migração da ligação dupla do sistema alílico para a formação de um enol (esquema 33). A constatação desse resultado levou à inviabilização do uso do álcool alílico no planejamento sintético, pois a falta da insaturação impede o emprego da metodologia de halogenação de Fukuyama, conforme discutido anteriormente. Embora esse intermediário não possa ser utilizado

na rota sintética, este resultado pode ser importante em outros estudos sintéticos e aproveitável em sínteses de outros produtos.

Esquema 33. Formação do produto de acoplamento **139**

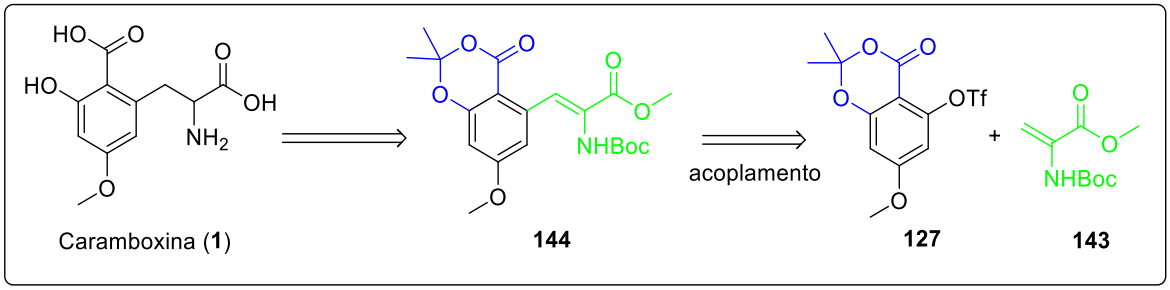


Também foi levantada a possibilidade de uso das olefinas acrilaldeído e álcool alílico com grupos protetores, afim de mudar a reatividade dos compostos e fornecer uma via para o produto **129**, bem como outras alternativas sintéticas como por exemplo, a redução da função éster do composto **138** para a função álcool utilizando $LiAlH_4$, com posterior reação de oxidação da função álcool para a função aldeído. Isso levaria ao produto desejado, apesar do aumento de etapas reacionais e da possibilidade de menor rendimento decorrente. No entanto, os resultados negativos obtidos nos testes dessas últimas etapas citadas, e com a proposição de uma nova rota sintética mais promissora para a obtenção do composto **1**, conduziram a uma mudança na estratégia de obtenção.

3.2. Nova abordagem sintética empregando acrilato derivado da serina

Devido aos problemas encontrados durante a etapa de acoplamento de Heck com o acrilaldeído e o álcool alílico, foi proposta uma nova via sintética, a qual havia sido considerada durante os primeiros esboços do planejamento sintético, mas que não havia sido avaliada. Esta nova proposta empregaria o acoplamento cruzado de Heck com o acrilato **143** derivado do aminoácido serina. A retrossíntese dessa nova proposta é ilustrada no esquema 34.

Esquema 34. Retrossíntese empregando o acrilato derivado de serina.



O sucesso dessa nova proposta reacional seria bastante significativo, dado que o produto do acoplamento de Heck entre **127** e **143** levaria a um produto muito próximo do composto **1**, exigindo poucas etapas adicionais para a obtenção do mesmo e permitiria o desenvolvimento de uma rota sintética mais eficiente para a síntese da caramboxina e de análogos estruturais, ampliando o estudo.

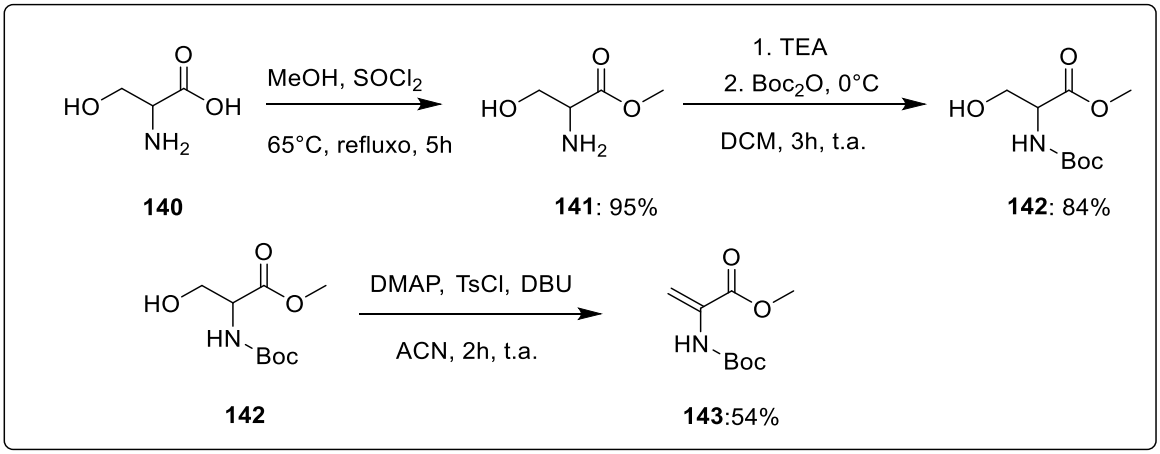
Assim, a partir dessa nova proposta, a síntese do acrilato **143** foi iniciada, com base em metodologia disponível na literatura (DIETZ et al, 2016; FERREIRA et al, 1999; YANG et al; 2016). Primeiro, foi empregada a reação de esterificação entre a serina (**140**) e metanol em meio reacional contendo cloreto de tionila, levando à formação seletiva do produto **141** na carboxila. O produto foi então purificado por recristalização e obtido com 95% de rendimento. A necessidade dessa reação era proteger o ácido carboxílico para as etapas posteriores.

A segunda etapa consistiu em uma proteção da amina com dicarbonato de di-*terc*-butila, através da reação deste reagente com o éster **141**, empregando trietilamina em meio reacional contendo diclorometano como solvente. Após extração e purificação por cromatografia em coluna, o produto **142** foi obtido com rendimento de 84%. O uso de dicarbonato de di-*terc*-butila permite proteger a função amino de diversos compostos como nucléofilos, bases, redutores e oxidantes, por exemplo (WUTS, 2007).

Por fim, na última etapa o composto **142** foi convertido no acrilato **143**, através de reação de eliminação com cloreto de tosila, 4-dietilamino-piridina e DBU como base forte, fazendo com que a função álcool do derivado de serina fosse convertida em um bom grupo de saída, que seria então eliminado levando ao alceno. Após extração e purificação por cromatografia em coluna, o produto **143** foi obtido com 54% de rendimento. Embora satisfatório, a causa para o moderado rendimento desta etapa

pode ser atribuída à fácil polimerização do acrilato obtido, durante as etapas de extração e purificação. As caracterizações desses blocos de construção também foram feitas com base nos resultados das análises por RMN e comparados com os respectivos dados espectroscópicos presentes na literatura. O esquema 35 resume as etapas citadas, rendimentos e condições reacionais empregadas.

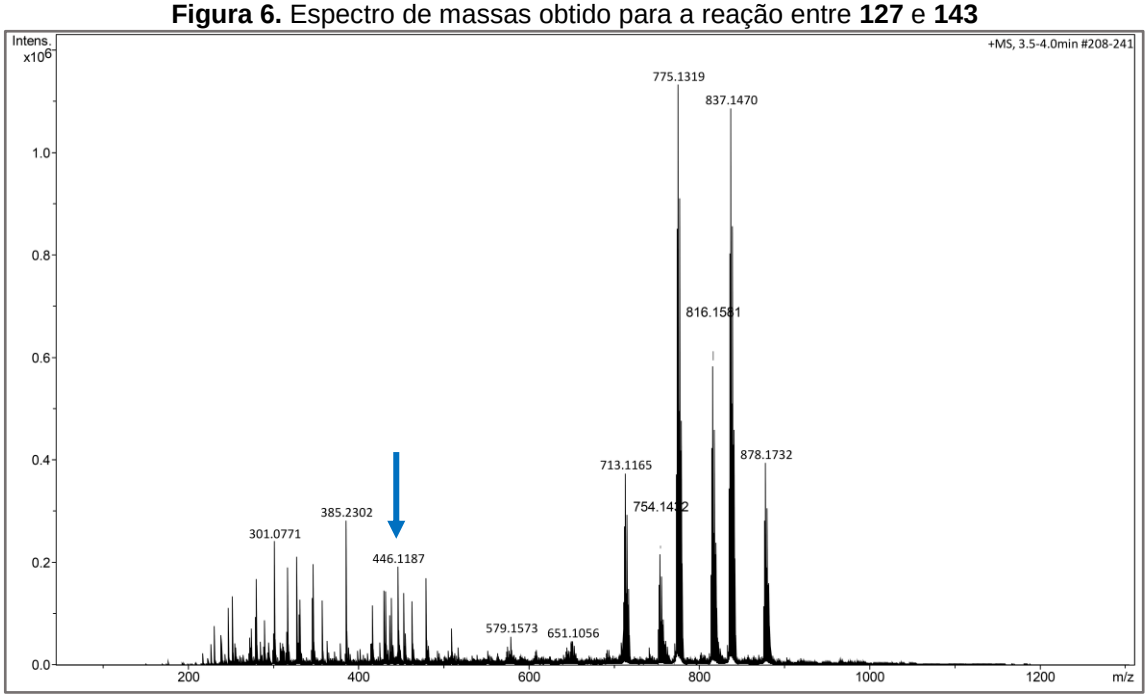
Esquema 35. Etapas reacionais da síntese do acrilato **143**



Então, após obtenção do acrilato **143**, foram feitos primeiros testes de acoplamento cruzado de Heck com o triflato **127**. Aplicando as condições anteriormente utilizadas, houve formação de um produto majoritário, entre outros produtos minoritários, de acordo com análise por cromatografia de camada delgada e por cromatografia em fase gasosa. Condições convencionais de aquecimento também foram empregadas e não forneceram resultados significativos, não havendo formação de produtos.

Assim, com os resultados encontrados, foi executada a extração e purificação por cromatografia em coluna dos produtos obtidos, os quais foram analisados por CG/EM e EMAR, afim de analisar se algum dos compostos obtidos apresentava massa condizente com o produto desejado. No entanto, os resultados das análises, empregando tanto modo positivo quanto negativo indicaram picos intensos de massas, cujos valores eram maiores do que o esperado para o composto **144**. Ainda que, entre os picos mais intensos, um pico correspondente à massa do composto somado a potássio (*m/z* = 446,1217) tivesse sido encontrado, este se mostrava em intensidade muito baixa, impossibilitando seu isolamento e quantificação. A seta na figura 6 indica o resultado observado.

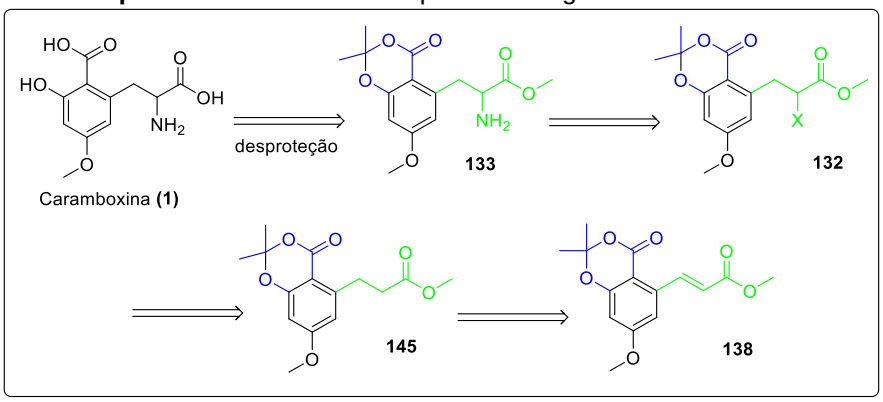
Figura 6. Espectro de massas obtido para a reação entre **127** e **143**



3.3. Nova abordagem sintética empregando o produto 138

Diante dos resultados obtidos para as metodologias estudadas, uma outra alternativa foi proposta, com base no uso do produto de acoplamento **138**. Empregando a hidrogenação catalítica da dupla ligação presente no composto citado, o hidrogênio alfa à carbonila do éster poderia ser substituído por um halogênio (Br ou I), resultando na síntese do derivado **132** ao final da etapa de substituição, como estabelecido anteriormente no esquema 24 e reaproveitando a rota sintética inicial. O esquema 36 mostra a retrossíntese dessa proposta.

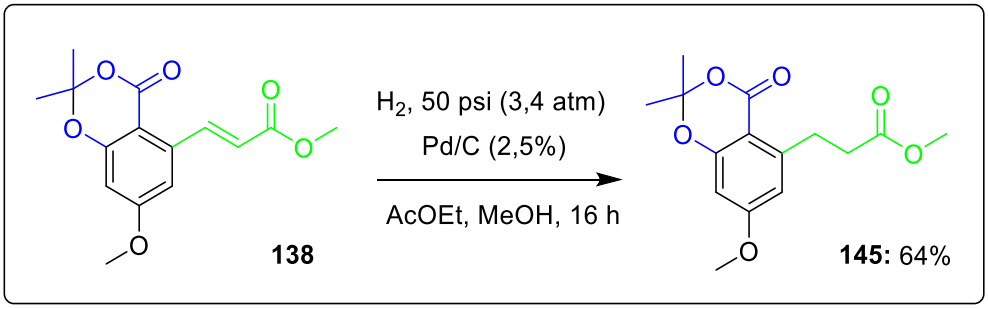
Esquema 36. Retrossíntese para estratégia alternativa utilizando **138**



Assim, o composto **138** foi submetido à reação de hidrogenação em condições presentes na literatura (DEL BEL et al, 2017). Empregando-se Pd/C em reator de

hidrogenação, as condições reacionais podem ser observadas no esquema 37. Após purificação por cromatografia em coluna, foi obtido o produto **145** com rendimento de 64%, caracterizado estruturalmente pela presença de dois sinais de multiplicidade tripleto no espectro de ressonância magnética nuclear.

Esquema 37. Etapa de hidrogenação do composto **138**



Posteriormente, o produto hidrogenado **145** foi submetido a uma reação de substituição do hidrogênio alfa à carbonila por um halogênio X (Br ou I). Para viabilizar essa etapa, a metodologia de escolha empregada foi baseada na reação do composto citado com bases fortes, para promover a formação do ânion enolato e em seguida reagir com iodo ou NBS.

Para obter a melhor metodologia, foram feitos testes empregando as bases LDA e hidreto de sódio. As análises de CG/EM do produto reacional que fizeram uso de LDA indicaram a formação de subprodutos entre a base e os halogênios, em detrimento da formação do produto halogenado desejado.

Outra base empregada para essa etapa reacional, o hidreto de sódio, foi estudado como alternativa devido ao reduzido impedimento estérico do ânion hidreto. Com iodo, não houve formação de produto, mas empregando-se NBS, a análise indicou tanto a formação de um produto majoritário quanto minoritário. Os resultados das análises feitas mostraram que o produto minoritário formado era o composto desejado, enquanto o produto majoritário era um produto de substituição eletrofílica aromática, que não poderia ser aproveitado na rota sintética. Modificações na metodologia, como aumento na quantidade da base empregada, não foram suficientes para melhorar a conversão do material para o produto desejado. A avaliação por CCD mostrou que os produtos tinham fator de retenção muito próximo, desestimulando sua purificação, uma vez que a separação dos produtos se mostrou bastante difícil. Mesmo com o emprego do produto halogenado bruto na subsequente reação de

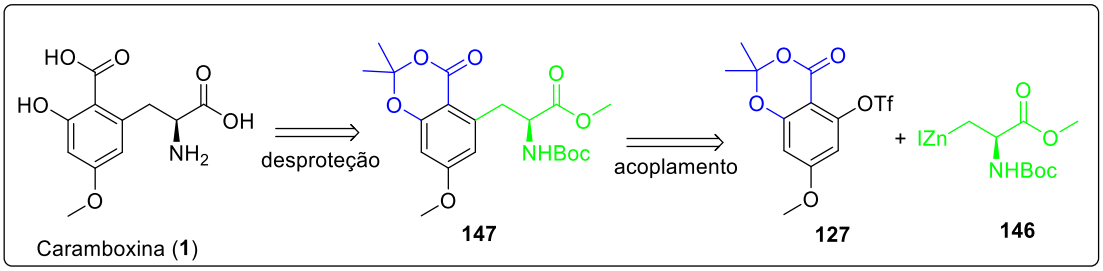
substituição com azida de sódio, na tentativa de que uma separação entre o produto de interesse resultante com os subprodutos observados fosse alcançada, o composto desejado não foi observado em nenhuma análise realizada, o que tornava essa estratégia sintética cada vez mais inviável.

3.4. Nova abordagem sintética empregando o derivado de serina 146

Embora o trabalho dispensado nessa metodologia tenha mostrado a necessidade de otimização, para atingir a síntese dos produtos desejados para a rota proposta, os resultados negativos obtidos e a dificuldade de avanço nas rotas estudadas até então levantaram a possibilidade de se utilizar uma nova estratégia, sem descartar compostos já obtidos durante o estudo.

Dessa maneira, com base nos resultados mostrados no trabalho de Jackson e colaboradores, mais uma estratégia sintética foi planejada, dessa vez fazendo uso da reação de acoplamento cruzado de Negishi entre o derivado organozinco de serina **146** e o substrato **127**, levando à conectividade das partes (ROSS et al, 2010; RILATT et al; 2005). A retrossíntese para essa estratégia é ilustrada no esquema 38.

Esquema 38. Retrossíntese empregando derivado organozinco da serina

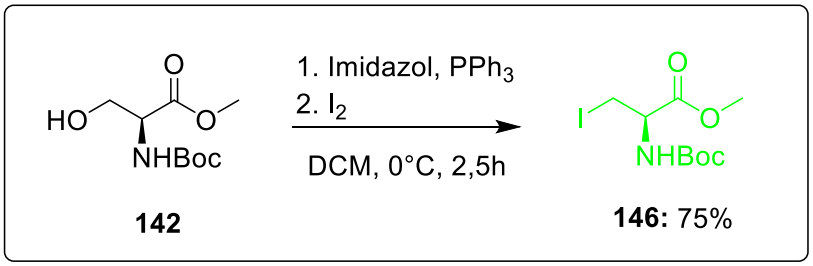


Nessa nova rota, o produto obtido através da reação de Negishi poderia então ser submetido diretamente à etapa de desproteção, uma vantagem em relação ao acoplamento de Heck empregando o acrilato **143**. Dado que o composto sintetizado **147** não apresenta insaturação, isso implicaria em uma etapa a menos para a obtenção do composto **1** em relação à metodologia de Heck (a rota mais curta estudada até então), além da possibilidade de desenvolver uma rota sintética assimétrica, ao se utilizar um derivado de serina com configuração determinada. Outro aspecto positivo dessa rota, o emprego do derivado iodado faz uso de algumas etapas

já bem estabelecidas no estudo, as quais foram empregadas para obtenção do acrilato **143**.

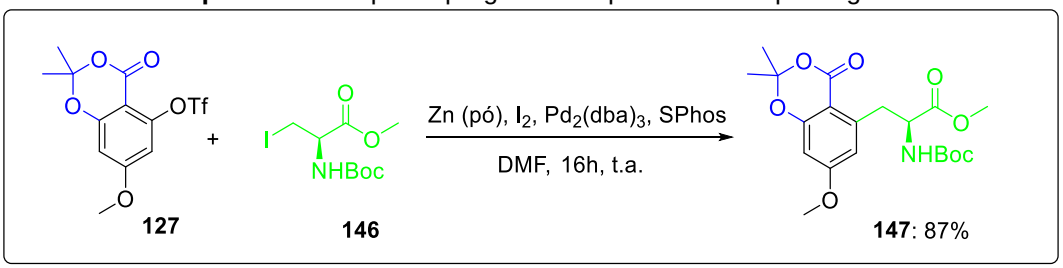
Assim, para obtenção do derivado **146**, foi empregada apenas uma nova reação, com metodologia presente na literatura que utiliza o composto **142** juntamente com trifenilfosfina, imidazol e iodo molecular (ATMURI, 2015). Após a formação do aduto entre a trifenilfosfina e o iodo molecular, é adicionado o intermediário **142**, sofrendo então a formação de um sal de fosfônio, que se decompõe através de uma reação de substituição do tipo Sn_2 levando ao composto desejado. Após filtração do trifenilfosfinóxido e purificação por cromatografia em coluna, o derivado de serina **146** foi obtido com 75% de rendimento (esquema 39).

Esquema 39. Síntese do intermediário derivado da serina com iodo



Após a obtenção do composto **146** foram feitos testes iniciais para o acoplamento de Negishi (esquema 40). Os resultados iniciais não foram satisfatórios, pois não foi observada a formação do produto esperado, seguindo-se o procedimento experimental reportado na literatura. Portanto, testes de formação do intermediário organozinco foram realizados para que fosse possível atestar sua formação e, uma vez comprovada, prosseguir com os testes de acoplamento.

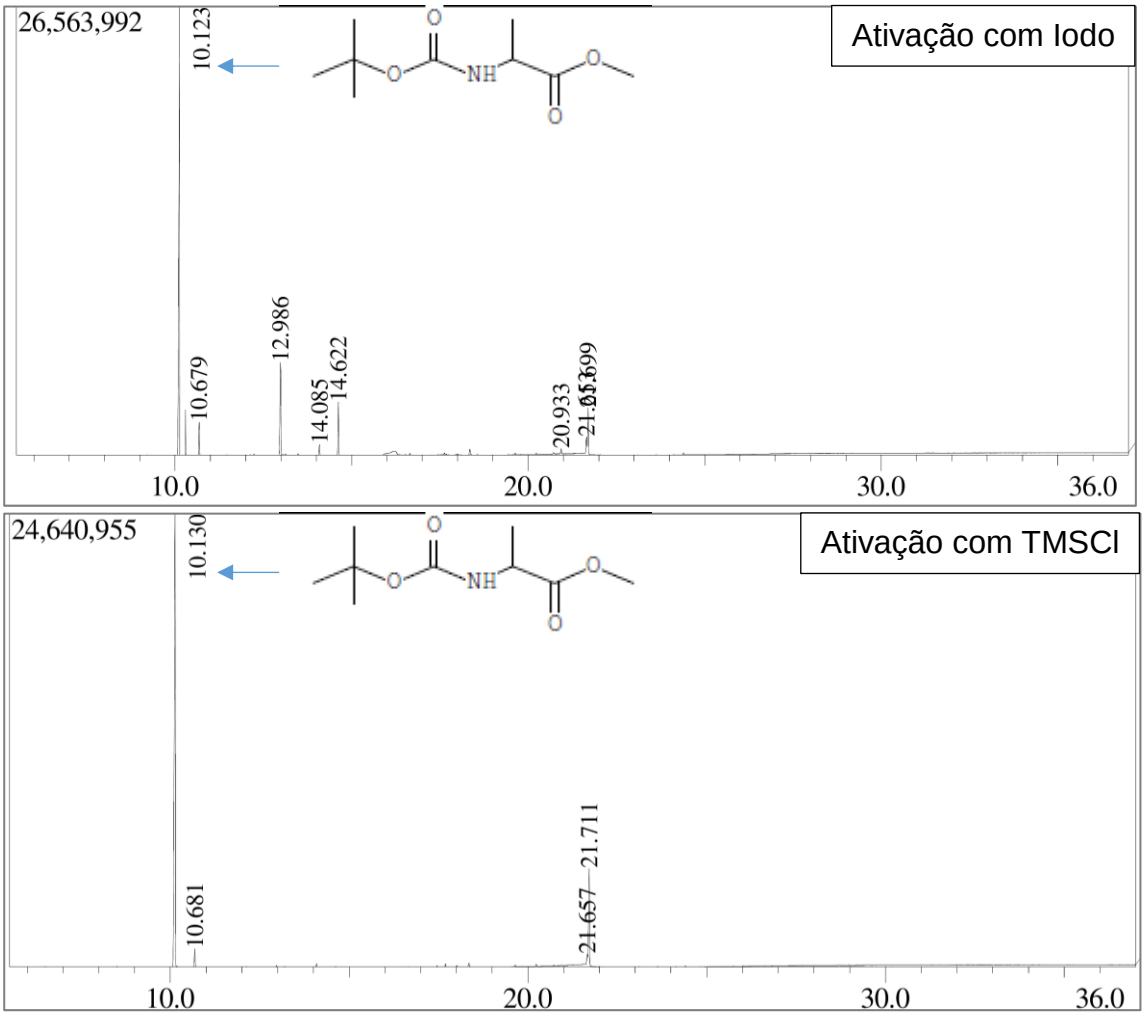
Esquema 40. Etapa empregando acoplamento do tipo Negishi



Segundo a metodologia original, a ativação do zinco era alcançada com o uso de iodo. No entanto, com os resultados negativos observados para a formação do organozinco, outra metodologia de ativação foi estudada (PICOTIN e MIGINIAC,

1987), na qual empregava-se TMSCl, afim de promover a ativação do zinco e melhorar a formação *in situ* do intermediário. Assim, através da hidrólise do organozinco presente no meio reacional para a formação de um produto característico, as metodologias de ativação foram comparadas e seus resultados foram avaliados através de CG/EM. A figura 7 mostra os cromatogramas obtidos para cada metodologia. Os picos mais intensos, com tempos de retenção próximos de 10,1 min. identificam o produto organozinco hidrolisado, ilustrado na figura.

Figura 7. Cromatogramas obtidos para os produtos de hidrólise de **146**



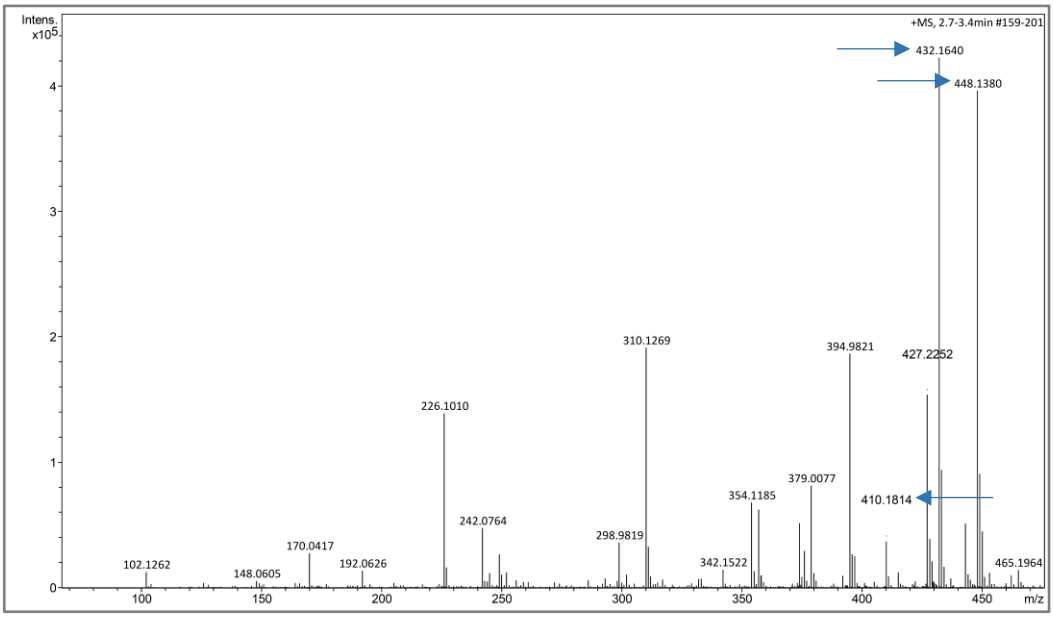
Uma vez que melhores resultados foram obtidos para a ativação utilizando TMSCl por apresentar menos subprodutos e apresentar maior reprodutibilidade, essa metodologia passou a ser considerada para compor a reação de acoplamento e com a formação do organozinco confirmada, uma nova tentativa foi feita. Para aumentar as chances de sucesso e contornar reações paralelas, cinco equivalentes do derivado

iodado **146** foram utilizados na preparação do organozinco, em relação ao triflato **127**, além de porcentagem dobrada de catalisador e ligante. Um aspecto interessante foi observado devido ao grande desprendimento de calor durante a adição do derivado de serina, o que corroborou para atestar a inserção do zinco, uma vez que essa reação é exotérmica.

Ao final da reação, a análise por CCD indicou a formação de produtos, embora a resolução observada fosse baixa. Análises por CG e CG/EM não foram possíveis de serem utilizadas, pois não eram observados resultados compatíveis com aquele mostrado por CCD, indicando que o produto sofria decomposição durante as análises, decorrente dos métodos de ionização dessas técnicas, que são mais energéticos. Porém, através de análise por EMAR com ionização por electrospray, foi possível inferir que o produto **147** havia sido formado (*m/z* = 410). A figura 8 mostra o resultado obtido, onde é possível notar que os picos mais intensos correspondem a adutos do composto com sódio (*m/z* = 432) e potássio (*m/z* = 448).

Com esses resultados, foi feita a purificação por coluna cromatográfica e após a separação de cada componente presente, uma nova análise por EMAR foi realizada, confirmando a obtenção do produto desejado. Os subprodutos analisados consistiam de acoplamento paralelos ou fragmentos. O rendimento dessa primeira reação, embora modesto por apresentar valor de 35%, foi considerado satisfatório.

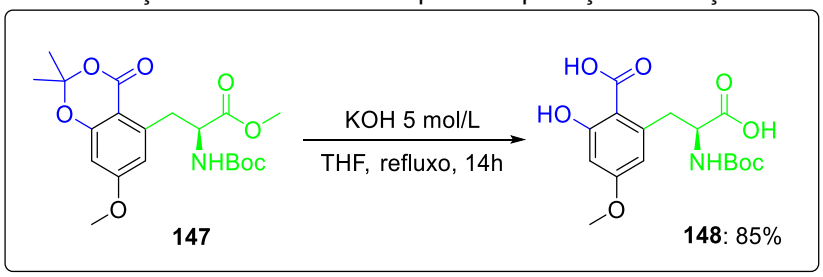
Figura 8. Espectro de massas de alta resolução para o acoplamento entre **127** e **146**



Com esse importante resultado alcançado, foi possível dedicar maior atenção para essa metodologia, de modo que novas reações pudessem ser feitas com otimização dos parâmetros. Observou-se que a quantidade do composto **146** poderia ser reduzida para um excesso de 40%, evitando grande consumo do mesmo. Uma vez que a reação ajustada se mostrou reprodutível, maiores valores para o rendimento da metodologia foram observados, alcançando até 87% de rendimento.

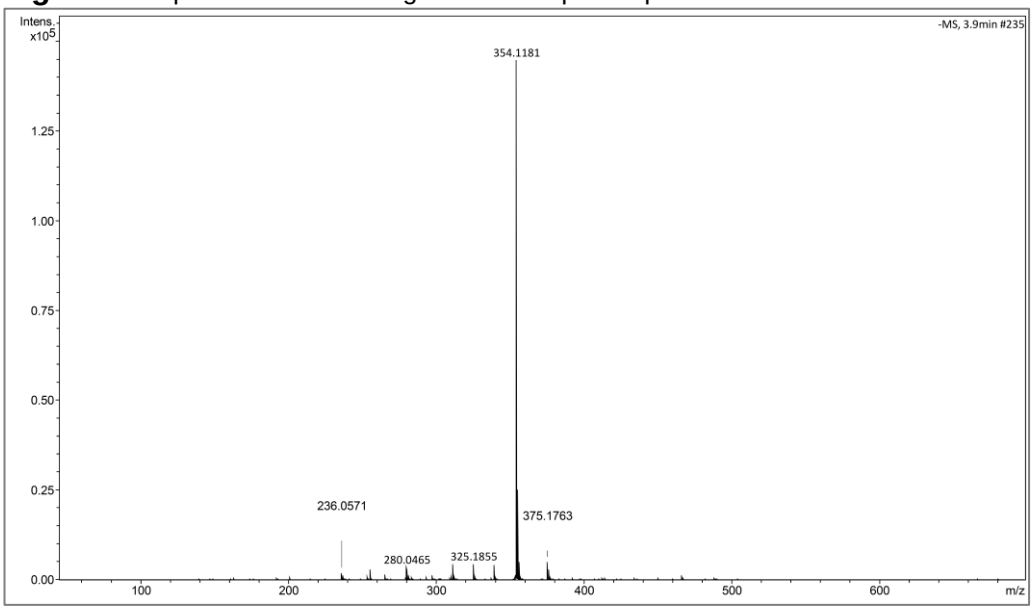
Após atingida a síntese do produto **147** através da reação de acoplamento cruzado de Negishi, foi dado início às etapas de desproteção. Com base na literatura, uma primeira reação de hidrólise foi testada (SHEN et al, 2003), utilizando a base hidróxido de potássio. Com essa metodologia foi possível remover a dioxinona e o éster metílico, regenerando três grupos funcionais (duas funções de ácido carboxílico e uma hidroxila) em uma única etapa e com bom rendimento de 85%, o que foi bastante positivo. O esquema 41 resume o procedimento reacional desta etapa.

Esquema 41. Reação de hidrólise básica para desproteção da função cetal e éster



Após a etapa de extração, uma análise de CCD indicou a presença de apenas um produto, o que foi confirmado através de espectrometria de massas de alta resolução. Dessa forma, somente a extração do produto foi necessária para sua purificação, outro aspecto vantajoso desta etapa. A figura 9 ilustra o resultado avaliado, cujo valor de *m/z* encontrado foi de 354, considerando que a análise utilizou o equipamento em modo negativo. Com a boa pureza obtida para o produto **148**, seu rendimento elevado e sua excelente reprodutibilidade, esta etapa se mostrou altamente eficiente.

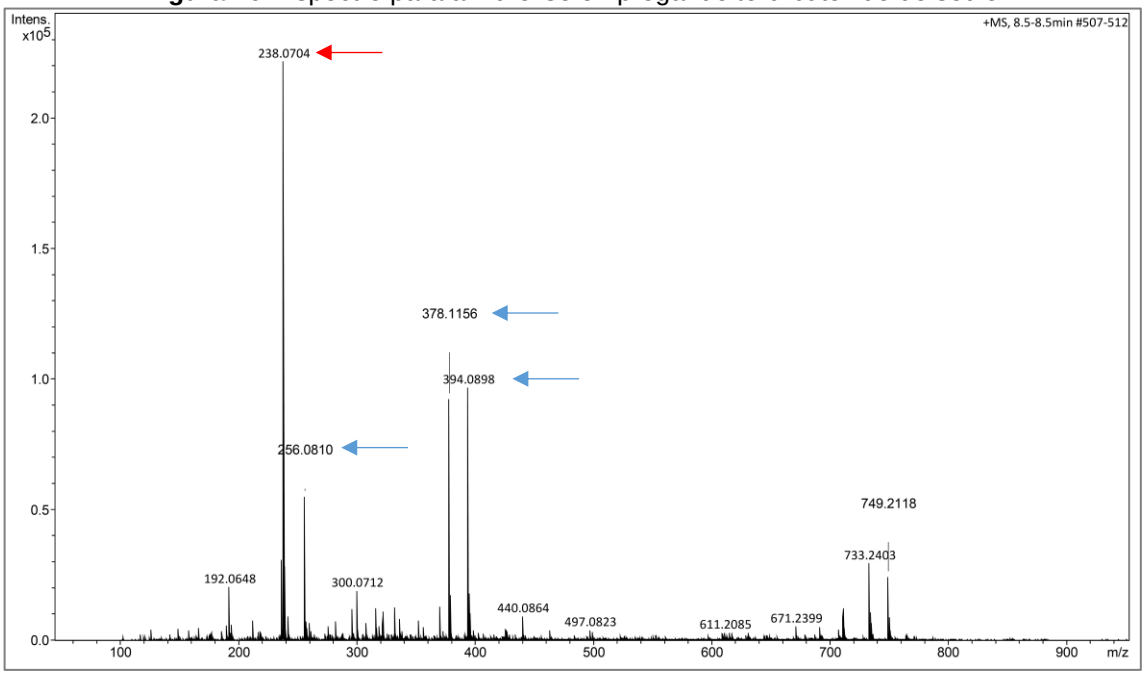
Figura 9. Espectro em modo negativo obtido para o produto de hidrólise básica **148**



Com apenas um grupo de proteção restante, foi iniciada a etapa para regenerar o grupo amino e obter a molécula alvo. Afim de escolher a forma de desproteção mais eficiente, foram testadas diferentes metodologias. Devido à possibilidade de formação de subproduto lactama, conforme observado no trabalho de Garcia-Cairasco e colaboradores (GARCIA-CAIRASCO et al, 2013), foram estudadas metodologias diferentes daquelas normalmente utilizadas para remoção do grupo protetor BOC.

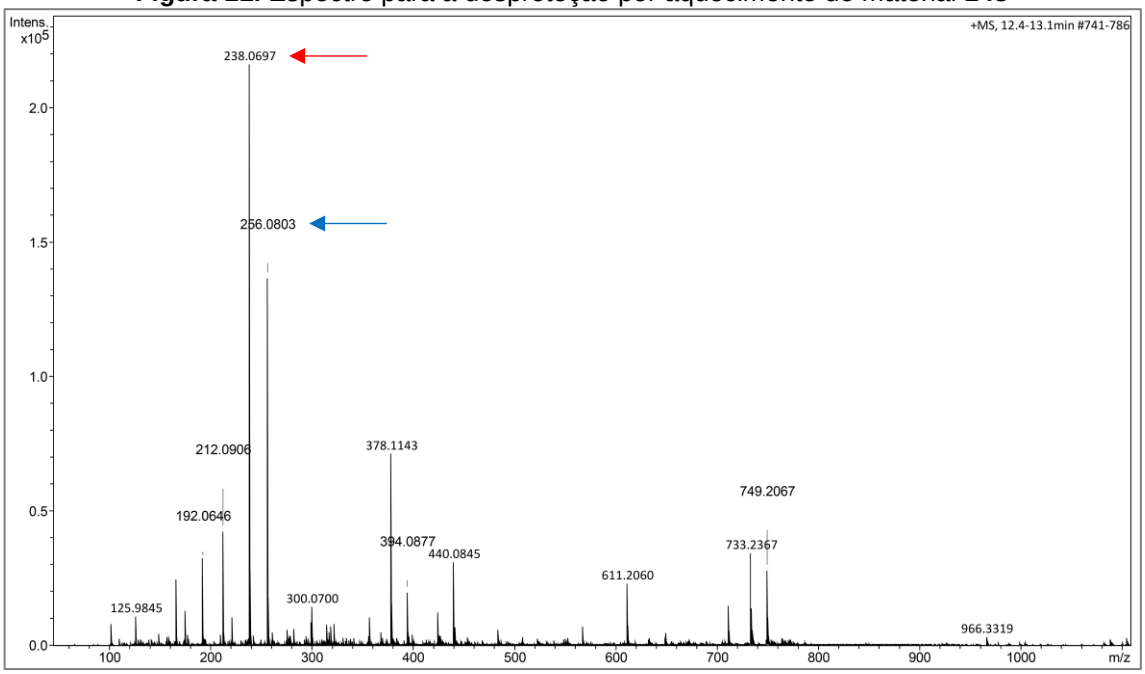
A primeira delas empregou uma desproteção por hidrólise básica baseada na literatura (TOM, 2004), utilizando o composto **147** e *terc*-butóxido de sódio, afim de promover a regeneração de todas as funções protegidas. Ainda que fosse capaz de desproteger as funções dioxinona e éster metílico, da mesma maneira que na metodologia de hidrólise básica utilizada anteriormente, as análises indicaram uma possível formação de lactama **6** devido à elevada intensidade do pico de *m/z* 238 (seta vermelha) e pequena conversão no produto final CBX com picos do material de partida (na forma de adutos com sódio e potássio), indicados pelas setas azuis no espectro mostrado na figura 10.

Figura 10. Espectro para a hidrólise empregando *terc*-butóxido de sódio



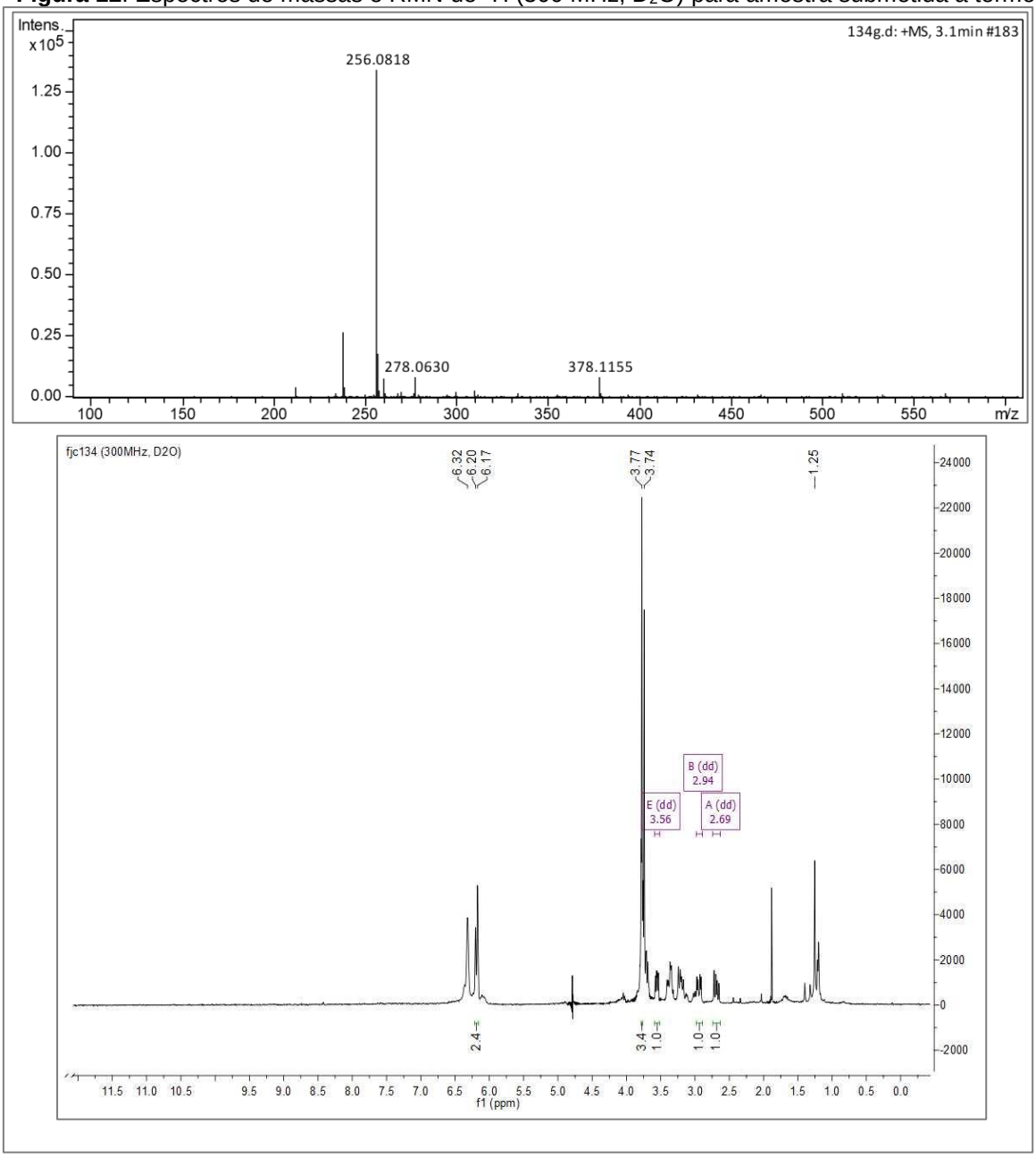
Assim, uma alternativa utilizando condições térmicas foi estudada (KRAKOWIAK & BRADSHAW, 1996), expondo o material de partida em estufa a 150°C por 3 horas. O resultado desse primeiro teste indicou que houve desproteção (seta azul), embora incompleta, como mostra o espectro da figura 11.

Figura 11. Espectro para a desproteção por aquecimento do material **148**



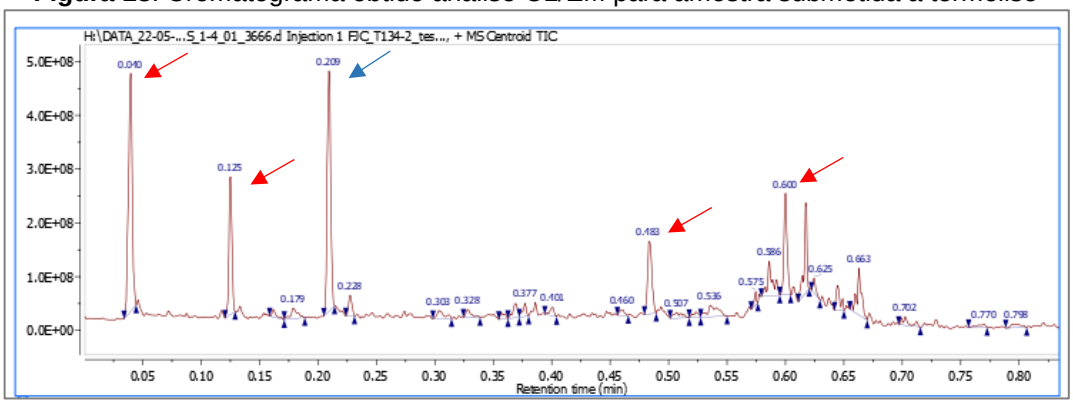
Então, com a avaliação de uma condição ótima para otimização da desproteção, na qual amostras foram coletadas sob variado tempo de exposição, foi estabelecida a condição de exposição da amostra a 150°C por 14 horas, com resultado bastante positivo tomando a análise por EMAR, porém o espectro de RMN da mesma amostra indicava impurezas, uma vez que mais sinais eram observados, além daqueles esperados. A figura 12 mostra os resultados obtidos.

Figura 12. Espectros de massas e RMN de ^1H (300 MHz, D_2O) para amostra submetida a termólise



Uma avaliação desse último resultado, através de análise por CL/EM, mostrou a presença de impurezas na amostra (indicadas por setas vermelhas), apesar da presença da CBX (indicada por seta azul), como mostra a figura 13 abaixo. Mesmo sob temperaturas mais brandas (100 °C), não houve melhora dos resultados e foi observada apenas conversão parcial de **148** em **1**. O conjunto desses resultados mostrou que a metodologia não era viável, devido às impurezas geradas e problemas de escalabilidade, mas principalmente pela baixa reprodutibilidade.

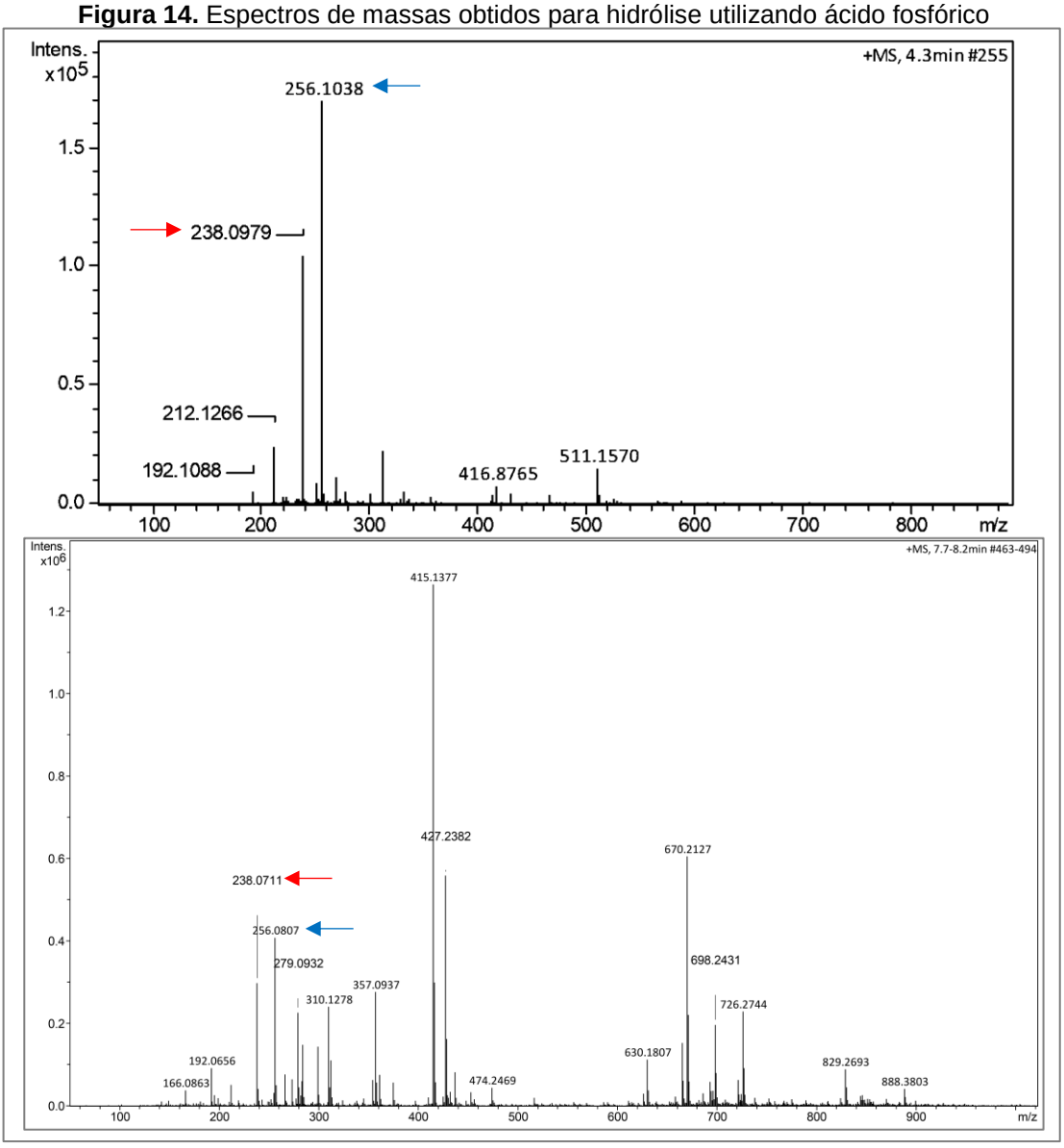
Figura 13. Cromatograma obtido análise CL/EM para amostra submetida a termólise



Em conjunto com o estudo de desproteção por via térmica, metodologias ácidas foram testadas, mais próximas das metodologias clássicas para desproteção do grupo BOC (WUTS, 2007). Embora houvesse uma suspeita de que o emprego de meio ácido poderia levar a uma conversão mais pronunciada do produto **148** na lactama **6**, seu teste era necessário para confirma tal hipótese.

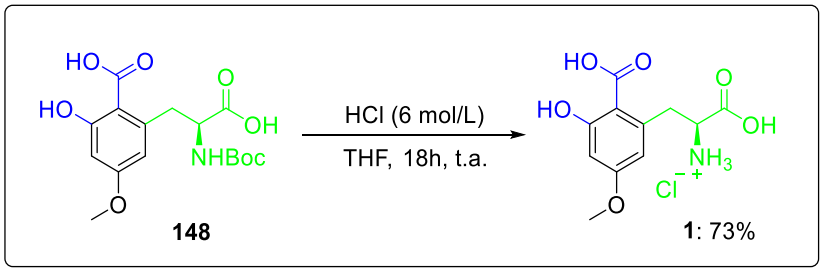
Dessa maneira, foi testada uma primeira reação empregando solução de ácido fosfórico, por apresentar condições mais brandas (LI et al, 2006). Apesar dos resultados preliminares indicarem a obtenção do produto desejado, foi observado que somente quando pequenas quantidades (cerca de 56 mmol) do material **148** eram aplicadas, boas conversões eram observadas, de acordo com as análises realizadas, mostrando que o aumento de escala não levava aos mesmos resultados. Mesmo com a modificação da metodologia, empregando maior quantidade equivalente de ácido fosfórico, melhores resultados não foram obtidos. A figura 14 mostra dois espectros de massa, comparando os resultados dos testes reacionais.

Figura 14. Espectros de massas obtidos para hidrólise utilizando ácido fosfórico



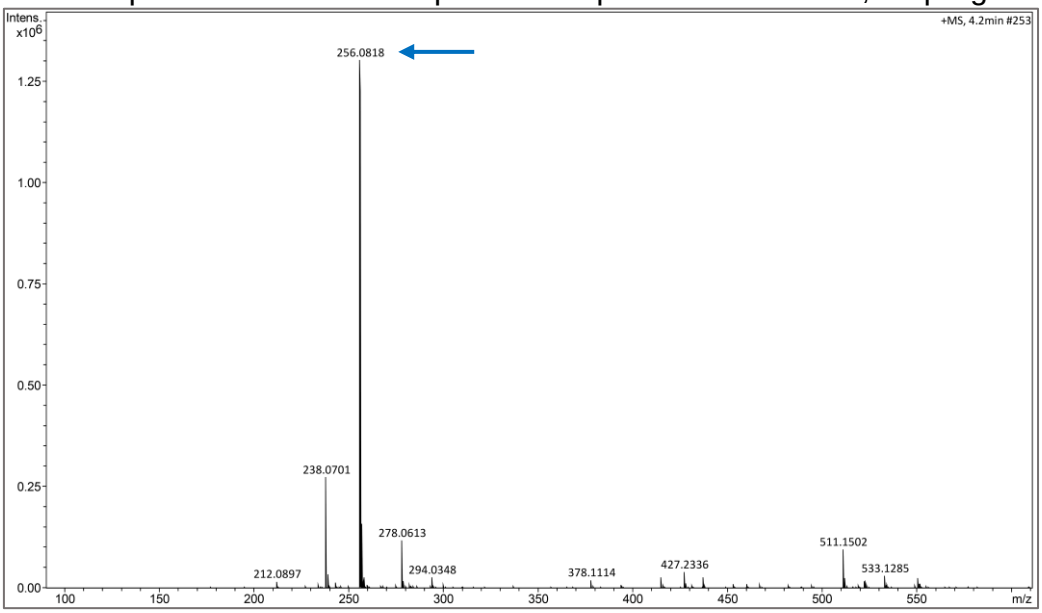
Embora os resultados disponíveis mostrassem que a molécula alvo havia sido alcançada, as conversões obtidas, bem como as escalas utilizadas, indicavam que sua obtenção poderia ser otimizada. Para tanto, a pesquisa de uma metodologia mais próxima daquelas empregadas para a desproteção, normalmente realizadas em meio ácido forte (WUTS, 2007), mostrou que uma reação de hidrólise, empregando uma solução de ácido clorídrico concentrado permitiria a síntese de CBX com melhor eficiência. (ZANARDI et al, 1995).

Esquema 42. Reação de hidrólise ácida para desproteção do grupo BOC



Desta vez, os resultados buscados foram atingidos e observou-se boa conversão do material de partida no produto final desejado, com baixa presença do subproduto **6**, conforme visto no espectro apresentado na figura 15. Mas o melhor aspecto observado durante os testes reacionais dessa metodologia, foram sua reprodutibilidade e escalabilidade. Como essas características não haviam sido observadas nos procedimentos de desproteção anteriores, isso motivou a escolha desta reação como ideal para desproteger o grupo amino.

Figura 15. Espectro de massas do produto **1** após hidrólise ácida, empregando HCl



Uma preocupação mencionada anteriormente era a possível conversão do produto CBX em **6**, como mencionado anteriormente. No entanto, os resultados permitiram concluir que o uso de meio ácido, juntamente com a manutenção do produto na forma salina, mantinha a protonação da função amino, devido à sua característica básica natural, dificultando a reação intramolecular responsável pela formação desse subproduto inativo.

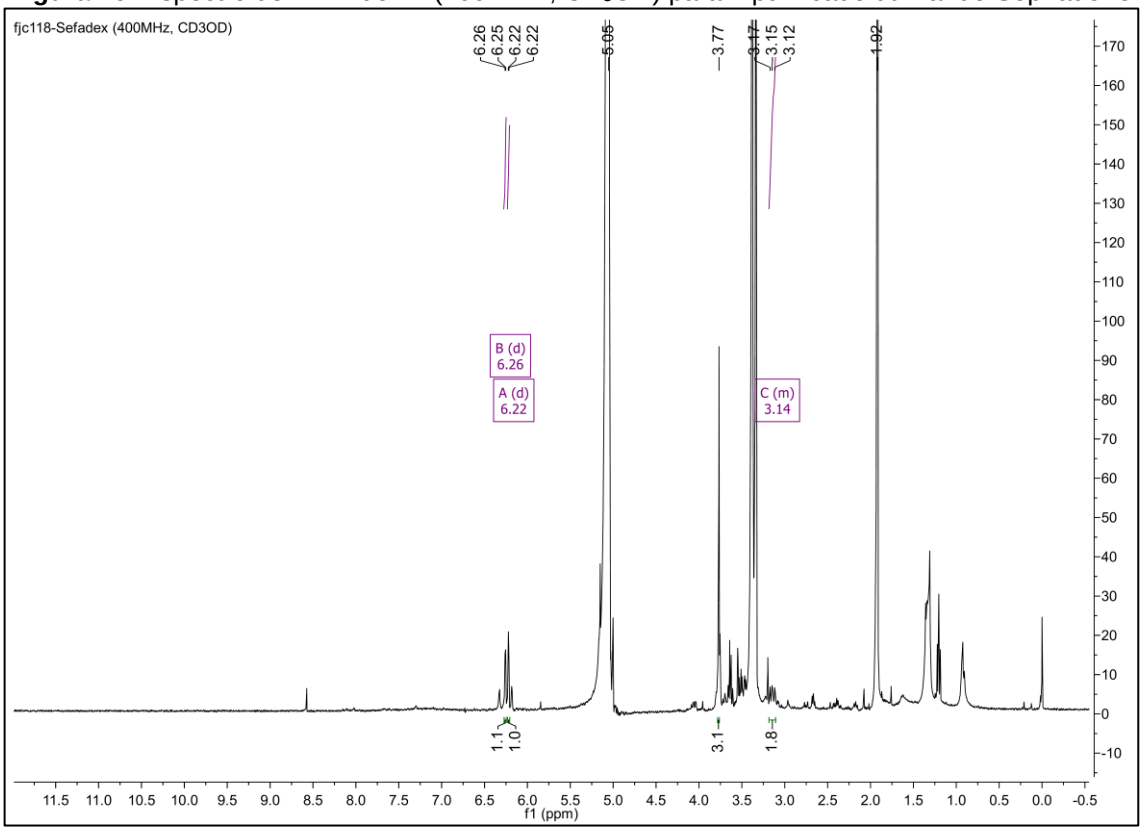
Embora o pico com relação *m/z* de 238 Da mpudesse ser atribuído à lactama **6**, cuja massa corresponde a 237 Da, análises por CL/EM permitiram uma melhor identificação dos produtos, uma vez que os tempos de retenção são bem diferentes para cada composto. Conforme visto na figura 13, o tempo de retenção obtido para CBX era de 0,209 min., enquanto a lactama apresentava 0,6 min. Dessa forma, foi possível inferir que esse pico é decorrente de ionização na fonte do equipamento, causando o fragmento observado não somente nesta análise, mas também em resultados anteriores. Conforme reportado na literatura, este primeiro fragmento foi causado pela perda de uma molécula de água da estrutura da caramboxina, levando à massa protonada observada (GARCIA-CAIRASCO et al., 2013)

3.4.1. Estudos visando a purificação do produto 1

Com relação à purificação do produto final, avaliações por CCD mostraram que o produto acoplado **147** tinha alta retenção em sílica, de acordo com a fase móvel empregada para que se atingisse a melhor separação dos componentes do analito. Com a obtenção da CBX, o uso de sílica em fase normal para sua purificação seria inviabilizado, uma vez que a tendência era o aumento da polaridade do produto, devido aos grupos funcionais polares espalhados pelo esqueleto molecular, acarretando em demasiada retenção na sílica. Após a purificação do produto **147** e com a constatação de que o produto **148** apresentava boa pureza somente com a extração, maiores esforços foram concentrados na purificação da molécula alvo.

Dessa forma, algumas técnicas foram testadas. Primeiramente, foi utilizado a cromatografia por exclusão de tamanho utilizando Sephadex®, em semelhança com a metodologia já utilizada para obtenção da caramboxina de fonte natural. A princípio, a exclusão por tamanho, característico dessa forma de purificação, permitiria a obtenção da CBX, mas a análise por RMN não mostrou os sinais característicos do produto esperado, apenas diversos sinais de impurezas, como pode ser visto na figura 16.

Figura 16. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, CD_3OD) para **1** purificado utilizando Sephadex®



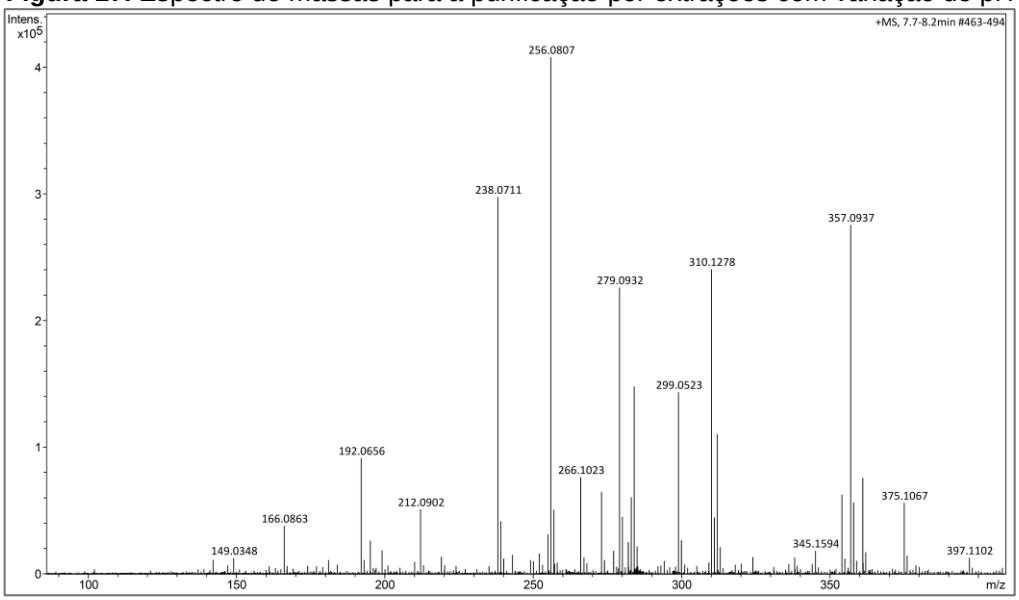
Outra técnica testada foi baseada no princípio do ponto isoelétrico, comum aos aminoácidos devido à sua estrutura. Uma vez que a solubilidade de aminoácidos é maior em solventes polares, devido às cargas espalhadas na estrutura, encontrar o ponto de carga neutra através de mudanças no pH permitiria uma solubilidade maior em solvente orgânico e, portanto, após uma primeira extração impurezas, a CBX poderia ser extraída com boa pureza através do controle de pH da solução. Assim, para determinar o ponto isoelétrico da molécula, uma “solução-mãe” do bruto reacional (obtida da metodologia de hidrólise ácida utilizando ácido fosfórico) foi submetida a variações controladas de pH, dentro de uma faixa determinada, com pequenas extrações a cada um dos sete pontos estabelecidos. Além destes pontos, um oitavo foi incluído correspondendo a um resíduo presente na solução mãe que, após as sucessivas variações, era solúvel apenas em solvente orgânico. A tabela 2 mostra os valores de pH estipulados.

Tabela 2. Valores de pH tomados para extrações através do ponto isoelétrico

Amostra (ponto)	1	2	3	4	5	6	7
pH	1,71	2,09	2,26	2,60	3,10	3,6	4,3

Após coleta de amostras e submissão à análise, o resultado para esse primeiro teste mostrou que a separação apresentou um resultado melhor para o ponto 2, com os demais apresentando material de partida ou subprodutos. No entanto, a escalabilidade se mostrou novamente um problema, pois ao aumentar a massa de produto a extrair e utilizando uma faixa de pH mais próxima do ponto ótimo determinado no primeiro teste, o resultado das análises de EMAR e CL/EM mostraram impurezas. A figura 17 mostra um dos resultados observados.

Figura 17. Espectro de massas para a purificação por extrações com variação de pH



Uma terceira técnica estudada, que pudesse conciliar não apenas boa pureza, mas também melhor escalabilidade, foi baseada no uso de cartuchos de extração em fase sólida, compostos de cadeia octadecil ligada à sílica (ODS). De forma exploratória, um primeiro teste empregou cerca de 20 mg do material bruto e fase móvel composta de água e metanol, com aumento da porcentagem de metanol (de 5 até 50%). E assim, as frações de fase móvel aplicadas no cartucho foram coletadas, separadas e depois evaporadas sob pressão reduzida.

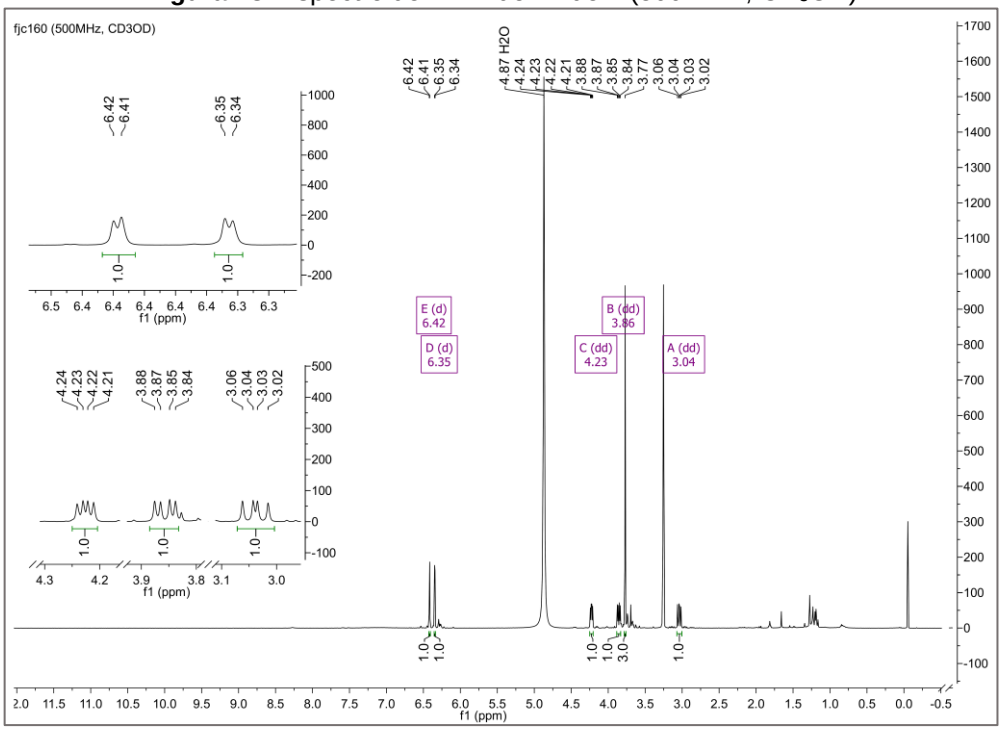
O teste mostrou que a CBX era recuperada, com ótima pureza, a partir de 10% de metanol chegando até 30% na composição da fase móvel, resultando na obtenção

de um sólido branco e cristalino. Um aspecto observado desse sólido foi sua baixa solubilidade mesmo em água pura, equivalente a aproximadamente 5 mg/mL. No entanto, uma melhora substancial dessa propriedade era observada com a adição de pequena quantidade de solução ácida, normalmente ácido clorídrico, o que foi considerado no preparo de fase móvel para purificações e análises seguintes.

Após a definição de uma metodologia de desproteção eficiente (utilizando ácido clorídrico), o emprego da fase explorada nos testes com os cartuchos necessitaria acompanhar o aumento de escala. Assim, considerando os resultados do teste, a purificação foi planejada para como uma coluna cromatográfica em fase reversa. Com a disponibilidade de um equipamento automatizado de cromatografia em coluna no Departamento de Física e Química da Faculdade de Farmácia, foi possível aumentar a eficiência do processo de purificação, com melhor escalabilidade e também pela possibilidade de ajuste para empregar metodologia de purificação similar àquela empregada em análises por CL/EM, que também fazia uso de fase móvel composta de metanol e água acidificada.

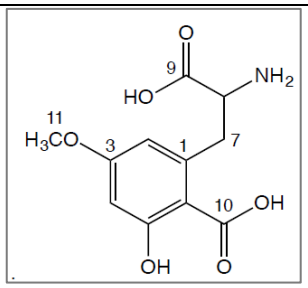
Assim, após as definições de metodologias de hidrólise e com análises por EMAR, CL/EM e RMN dos produtos obtidos até então, foi possível confirmar a molécula alvo em relação à sua massa e estrutura. A figura 18 mostra o espectro de RMN de ^{1}H obtido para a amostra sintética em CD_3OD.

Figura 18. Espectro de RMN de ^{1}H de **1** (500 MHz, CD_3OD)



Para comparar os dados obtidos do produto sintético com o produto natural, a tabela 3 é dada abaixo. Os dados de RMN de ^{13}C estão dispostos na parte experimental deste trabalho e os dados do produto natural estão dispostos no trabalho de GARCIA-CAIRASCO et al. (2013). Ainda que pequenas variações nos deslocamentos e nas constantes possam ser observadas para alguns sinais, até pelo uso de outro solvente para a análise do núcleo de ^{1}H, as similaridades dos demais e os desdobramentos apresentados indicam a correspondência entre as estruturas e corroboram para o resultado atingido.

Tabela 3. Comparação dos dados obtidos da CBX natural com a CBX sintética



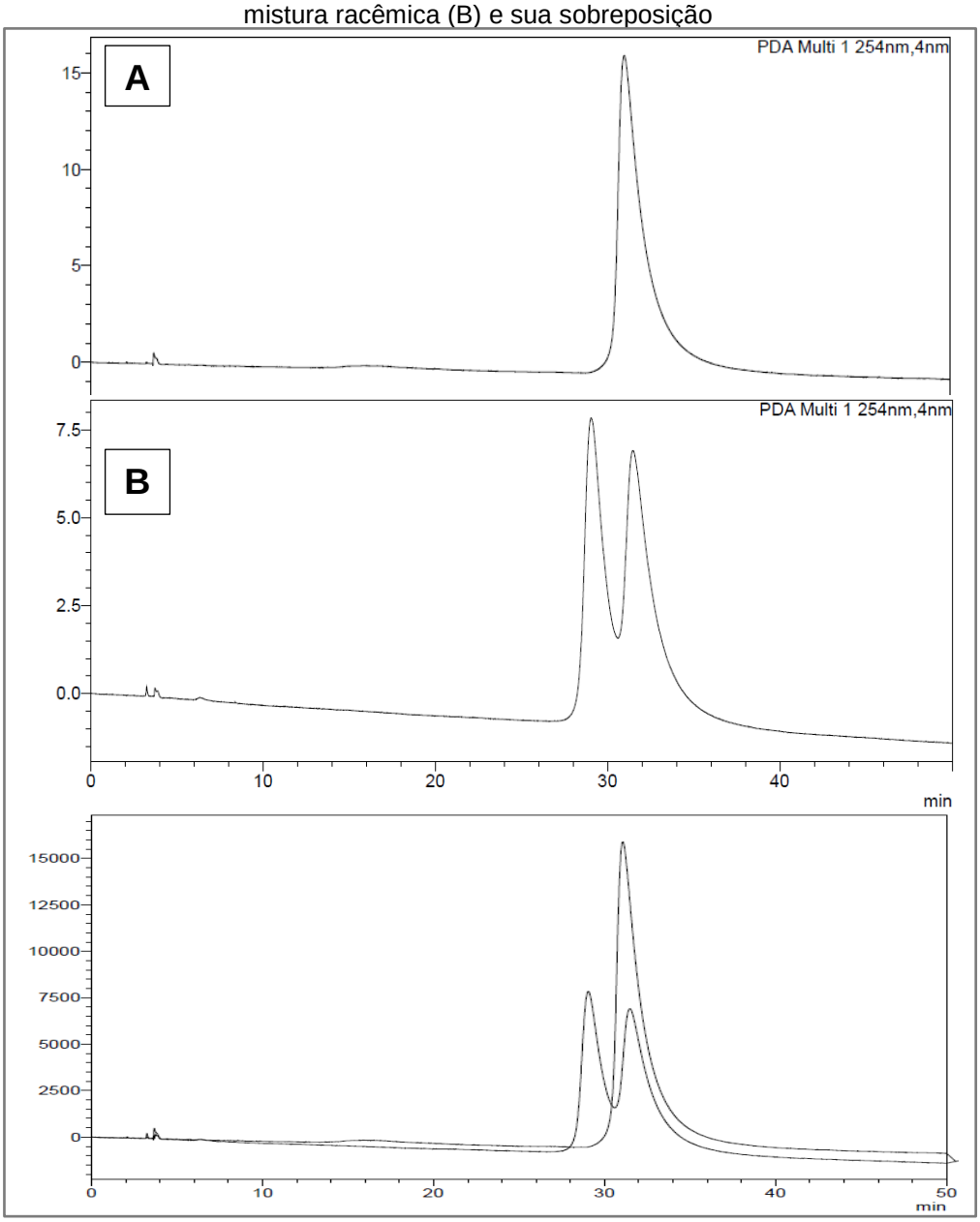
	Produto Natural		Produto sintético
	^{1}H (400 MHz, D_2O)		^{1}H (500 MHz, CD_3OD)
H-4	6,42 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H)	H-4	6,42 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H)
H-2	6,37 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H)	H-2	6,35 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H)
H-8	4,25 (dd, *J* = 5,5, 8,0 Hz, 1 H)	H-8	4,23 (dd, *J* = 5,3, 9,6 Hz, 1H)
H-11	3,80 (s, 3H)	H-11	3,77 (s, 3H)
H-7A	3,66 (dd, *J* = 14,0, 5,5 Hz, 1H)	H-7A	3,86 (dd, *J* = 13,6, 5,4 Hz, 1H)
H-7B	3,18 (dd, *J* = 14,0, 8,0 Hz, 1H)	H-7B	3,04 (dd, *J* = 13,6, 9,7 Hz, 1H)
^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6)			
C-9	172,8 (C)		172,8
C-10	171,2 (C)		170,9
C-5	165,2 (C)		165,1
C-3	162,2 (C)		161,2
C-1	138,8 (C)		138,6
C-2	110,0 (CH)		111,4
C-6	104,1 (C)		108,6
C-4	100,5 (CH)		100,0
C-11	55,4 (CH_3)		54,9
C-8	53,5 (CH)		53,5
C-7	35,9 (CH_2)		35,2

Com a síntese completa e a molécula caracterizada através das análises consideradas, foi possível também estudar a estereoquímica da estrutura, uma vez que a rota desenvolvida seria capaz de prover uma síntese da CBX com configuração determinada bastando empregar serina com configuração específica para a síntese do composto **146**. Durante o estudo, foram feitas sínteses da molécula alvo

empregando tanto derivado **146** sintetizado a partir do racemato de serina quanto da *L*-serina.

Assim, com a posse dos produtos finais tanto em forma opticamente ativa quanto na forma racêmica, análises cromatográficas de alta eficiência em fase quiral foram planejadas, uma vez que essa técnica tem sido aplicada na determinação da constituição estereoisomérica de diversos produtos (AHUJA, 1991; WAINER, 1993). Através de coluna com fase estacionária quiral empregando vancomicina, uma metodologia foi desenvolvida para identificar e quantificar os enantiômeros da caramboxina sintética. A figura 19 mostra os cromatogramas obtidos dessas análises.

Figura 19. Cromatogramas obtidos das análises quirais para o produto opticamente ativo (A) e para a mistura racêmica (B) e sua sobreposição



O resultado para a mistura racêmica foi obtido como o esperado, embora a resolução observada para os picos pudesse ser otimizada. Uma vez que a resolução cromatográfica é um parâmetro matemático que permite quantificar a separação de produtos em uma mistura e está relacionado à coluna empregada durante a análise, uma variação da coluna e das condições analíticas levaria a uma melhor resolução, consequentemente levando a picos mais separados e permitindo uma quantificação mais precisa dos componentes presentes na amostra.

Ainda que a resolução obtida fosse passível de otimização, o que poderia indicar um excesso enantiomérico na composição da amostra analisada, os resultados sobrepostos permitem afirmar que o cromatograma A mostrou a presença de um único enantiômero, um resultado bastante positivo, uma vez que não há indicação de racemização do produto acoplado durante as etapas de hidrólise. Isso também permite inferir que o produto obtido foi a *L*-caramboxina, uma vez que foi obtida da *L*-serina e não há etapa reacional que seja capaz de inverter a configuração do grupo amino na estratégia sintética definida.

Embora esses resultados permitam afirmar a configuração da CBX sintética como sendo levógira, uma análise comparativa pela mesma técnica, entre o produto natural e sintético, confirmaria de maneira definitiva os dados obtidos. Com a disponibilidade de CBX de fonte natural, esse resultado será avaliado juntamente com uma otimização das condições cromatográficas, para uma melhor separação entre picos.

No entanto, afim de avaliar outros métodos que gerassem mais dados e pudessem determinar que o produto opticamente ativo sintético detinha a mesma configuração que o natural, cuja configuração atribuída foi "*L*" (GARCIA-CAIRASCO et al, 2013), uma alternativa foi o uso de polarímetro. Assim foram tomadas leituras do material racêmico, do enantiômero sintético e de um padrão fenilalanina para comparação do valor lido com aquele disposto na literatura (SAJEWICZ et al, 2008). As amostras foram solubilizadas em solução de água acidificada e metanol ou utilizando somente metanol.

Entretanto, conforme os resultados eram lidos, notou-se que não havia coerência nos valores observados, mesmo para o padrão fenilalanina utilizado quando foi empregada a solução de metanol e água acidificada. Quando metanol era utilizado, os valores eram mais coerentes, todavia, o valor obtido para o racemato (cujo valor

diferia de zero) não permitia maior confiança nos resultados, ainda que o produto opticamente ativo apresentasse valor negativo, assim como no trabalho de Garcia-Cairasco.

4. CONCLUSÃO

Com a síntese total da caramboxina alcançada, incluindo seu produto opticamente ativo, a disponibilidade da toxina para estudos diversos abre possibilidades para distintas áreas de pesquisa como a toxicologia, bioquímica, química medicinal, entre outras, o que representa oportunidades para a ciência brasileira, devido ao impacto da descoberta do composto.

Embora sua síntese tenha sido redesenhada ao longo do estudo, de acordo com os resultados obtidos a cada etapa, essa variação nas reações e técnicas empregadas permitiram uma maior compreensão da reatividade de determinados reagentes, ampliando os conhecimentos relativos à sua síntese total. A síntese através da reação de Heck por exemplo, permitiu a obtenção de **138** com excelente rendimento e eficiência, porém quando o substrato **143** foi empregado, a reação não produziu resultados relevantes.

Decorrente dessas observações, as reações de acoplamento baseadas em paládio mostraram mais uma vez sua relevância e versatilidade para a química orgânica sintética, ao estarem presentes em todas as rotas estudadas neste trabalho, compondo etapas-chave para a obtenção da caramboxina, com destaque para a reação de acoplamento cruzado de Negishi, utilizada na rota sintética que conduziu à molécula alvo e que fez uso de um intermediário mais reativo, ainda que funcionalizado, considerando as reações de acoplamento cruzado

Com o desenvolvimento da rota sintética já é possível traçar planejamentos para trabalhos futuros, permitindo que compostos análogos com potencial atividade biológica sejam obtidos e estudados.

Com um satisfatório rendimento global de 33% em 10 etapas, com boa reprodutibilidade e escalabilidade, podemos dizer que esta é uma rota eficiente, empregando reações conhecidas e consolidadas, permitindo inclusive a síntese de CBX assimétrica. Isso representa um importante objetivo cumprido não apenas para a realização deste trabalho, mas também para o grupo de pesquisa onde o estudo foi realizado, dado seu histórico com a caramboxina, desde o isolamento do produto natural.

5. MATERIAIS E METODOLOGIAS

5.1. Procedimentos gerais

Os solventes e reagentes foram tratados quando necessário, de acordo com as recomendações presentes na literatura (ARMAREGO e CHAI, 2003). As reações foram efetuadas sob condições controladas de temperatura de acordo com as metodologias empregadas e, quando necessário, sob atmosfera inerte.

As reações que envolvessem aquecimento foram realizadas com o auxílio de mantas, banhos de óleo ou em reator de micro-ondas (Marca Anton Paar, modelo Monowave 300), conforme a necessidade de cada reação (KAPPE, 2004). Reações empregando intermediários reativos instáveis foram gerados *in situ* sob condições controladas, como observado na etapa reacional que fazia uso de uma reação de acoplamento cruzado de Negishi.

Os produtos reacionais foram isolados por extrações com solventes orgânicos apropriados e submetidos a purificações por cristalização, destilação ou por cromatografia em coluna, dependendo das características da substância em questão. Soluções saturadas de sais como cloreto de sódio ou bicarbonato de sódio, por exemplo previamente preparadas foram utilizadas para as extrações.

Para a purificação via cromatografia em coluna, foram utilizadas colunas de vidro e sílica gel do tipo flash (tamanho de partícula 230-400 mesh, 40-63 µm e tamanho de poro 60 Å) da marca Sigma-Aldrich. Quando necessário, foi utilizada sílica C_{18} da marca Sigma-Aldrih para purificação em fase reversa (tamanho de partícula 230-400 mesh, 40-63 µm e tamanho de poro 90 Å). Purificações em colunador automatizado foram executadas em um equipamento da marca Biotage, modelo Isolera. Como eluente, foram utilizados solventes puros ou misturas de solventes adequados, de acordo com os fatores de retenção de cada produto. Eventualmente, aditivos foram incluídos no preparo de fase móvel.

Leituras de deslocamento da luz plano-polarizada foram executadas em polarímetro digital marca Jasco, modelo P-2000, com lâmpada de sódio e cela de 10 cm, disponível no Departamento de Física e Química da Faculdade de Farmácia de Ribeirão Preto. As leituras foram feitas empregando amostras de 10 mg solubilizadas em 1 mL de solução de iguais quantidades de água acidificada (0,05%) e metanol ou 1 mL de metanol puro, grau HPLC.

5.1.1. Caracterização e Análises cromatográficas e espectrométricas

Dentre as análises espectrométricas, os compostos isolados foram caracterizados por diferentes técnicas: análises por RMN de ^{1}H, ^{13}C e eventualmente outros núcleos; espectrometria de massas de alta e baixa resolução e técnicas cromatográficas. Os equipamentos utilizados para as análises cromatográficas e espectrométricas estão alocados no Departamento de Física e Química da Faculdade de Farmácia de Ribeirão Preto.

5.1.2. Análises cromatográficas

O curso de cada reação executada no estudo foi monitorado por cromatografia em camada delgada e por cromatografia em fase gasosa, quando possível. Para as análises de CCD, foram usadas placas comerciais da marca Sigma-Aldrich (fase normal, sílica) ou Merck (fase reversa C_{18}), já preparadas com indicador para luz ultravioleta (λ = 254 nm). Quando necessário, alternativas de revelação eram utilizadas, como solução ácida de vanilina ou iodo sublimado.

Análises cromatográficas em fase gasosa foram realizadas utilizando um cromatógrafo Shimadzu modelo GC-2014, dotado de injetor automático AOC-20i, empregando N2 como gás de arraste e ionização por chama. A coluna utilizada foi uma RTX-1, marca Restek e o fluxo empregado foi de 1,30 mL/min e pressão de 98,5 kPa.

Caracterizada como espectrometria de massas de baixa resolução, a técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrômetro de massas (CG/EM) também foi aplicada para caracterizar produtos reacionais, fazendo uso de um cromatógrafo Shimadzu modelo QP2010, com sistema de ionização por impacto eletrônico (70 eV). A coluna empregada foi uma DB-5 MS, marca J&W Scientific, empregando hélio como gás de arraste e com fluxo de 1,30 mL/min e pressão de 69,3 kPa. Para amostras que não podiam ser analisadas por impacto eletrônico, foi utilizada técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrômetro de massas com sistema de ionização por electrospray e analisador por armadilha de elétrons.

Para separação de enantiômeros e determinação de excesso enantiomérico, análises cromatográficas foram feitas em cromatógrafo Shimadzu modelo ECO,

empregando coluna Chirobiotic V (150 x 4,6 mm; 5 µm) e operando com forno a 40°C, fluxo de 0,6 mL/min e com volume de injeção de 1 µL.

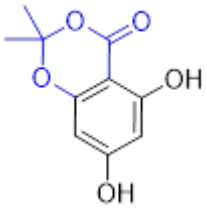
5.1.3. Análises espectrométricas

As análises por RMN foram realizadas em espectrômetros da marca Bruker, modelos DPX 300, DRX 400 e DRX 500 alocados no Departamento de Química. Os espectros para núcleos de ^{1}H foram obtidos sob 300, 400 ou 500 MHz. Para os núcleos de ^{13}C, os espectros foram obtidos sob 75, 100 ou 125 MHz. Os deslocamentos químicos (δ), obtidos em parte por milhão (ppm), utilizavam TMS como padrão interno.

Espectros de massas de alta resolução foram adquiridas em equipamento Bruker microTOF QII Bruker-Daltonics, com sistema de ionização por electrospray. As amostras eram submetidas à análise através de bomba de infusão, com fluxo de 1 µL/min e os espectros podiam ser gerados em modo positivo ou negativo.

5.2. Procedimentos experimentais

5.2.1. Preparação da 5,7-dihidroxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]dioxin-4-ona (125)

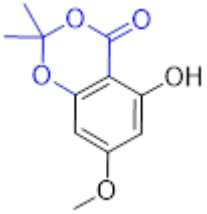


Em um balão, munido de agitação magnética, contendo o composto **124** (26,60 mmol, 5,0 g) e ácido trifluoracético (0,50 mol, 38,0 mL) à 0°C, adicionou-se anidrido trifluoracético (0,20 mol, 28,5 mL) e acetona (5,0 mL). Após 20 horas em agitação à temperatura ambiente, a mistura reacional foi concentrada por destilação e o resíduo foi solubilizado em acetato de etila (70 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de $NaHCO_3$ (2 × 50 mL) e NaCl (50 mL), seca com $MgSO_4$ e concentrada por pressão reduzida. O produto foi purificado por coluna cromatográfica, levando a um sólido amarelado (5,2 g, 92%).

RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d6, ppm) δ: 10,92 (s, 1H), 10,31 (s, 1H), 6,03 (d, *J* = 2,0) Hz, 1H), 5,95 (d, *J* = 2,0) Hz, 1H), 1,67 (s, 6H);

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d6, ppm) δ: 166,3, 163,4, 162,1, 156,9, 106,4, 97,2, 95,3, 91,7, 25,0, 22,2;

5.2.2. Preparação da 5-hidroxi-7-metoxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]dioxin-4-ona (126)

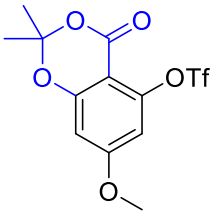


Em um balão, munido de agitação magnética e atmosfera de N_2, contendo o composto **125** (4,76 mmol, 1,0 g), PPh_3 (5,23 mmol, 1,37 g), metanol (5,23 mmol, 0,21 mL) e THF (10 mL), adicionou-se DIAD (5,71 mmol, 1,12 mL) à 0°C, após a adição a temperatura foi mantida e a reação agitada por 4 horas. Após o término da reação, a mistura reacional foi concentrada por pressão reduzida e o produto purificado por coluna cromatográfica, levando a um sólido amarelado (842 mg, 79%).

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 10,45 (s, 1H), 6,15 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 6,01 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 3,82 (s, 3H), 1,73 (s, 6H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 167,7, 165,2, 163,1, 156,9, 106,9, 95,8, 94,6, 93,1, 55,7, 25,6.

5.2.3. Preparação de trifluormetanosulfonato de 7-metoxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]dioxin-5-ila (127)

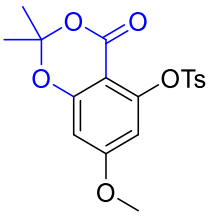


Em um balão, munido de agitação magnética e atmosfera de N_2, contendo o composto **126** (6,25 mmol, 1,4 g) e piridina (13,6 mL), adicionou-se anidrido tríflico (5,3 mmol, 1,57 mL) à 0°C, após a adição a temperatura foi mantida e a reação agitada por 1,5 hora. Após o término da reação, a mistura reacional foi diluída com acetato de etila (50 mL) e lavada com soluções de $CuSO_4$ (3 × 30 mL) e NaCl (30 mL). A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ e concentrada por pressão reduzida. O produto foi purificado por coluna cromatográfica, levando a um sólido amarelado (1,89 g, 85%).

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 6,55 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 6,50 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 3,89 (s, 3H), 1,76 (s, 6H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 165,6, 158,9, 157,0, 149,9, 125,1, 120,9, 116,6, 112,4, 106,6, 105,3, 101,1, 101,0, 56,3, 25,5.

5.2.4. Preparação da metilbenzenosulfonato de 7-metoxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]dioxin-5-ila (128)

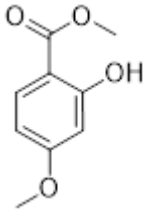


Em um balão, munido de agitação magnética e atmosfera de N_2, contendo o composto **126** (1,07 mmol, 220 mg) e THF (3 mL) à 0°C, foi adcicionado NaH (1,00 mmol, 50 mg). Após cerca de 10 minutos a 0°C, foi adicionado cloreto de tosila (1 mmol, 206 mg) dissolvido em THF (3 mL). Após meia hora a 0°C e 2 horas a temperatura ambiente, a mistura reacional foi diluída com acetato de etila (10 mL) e NaCl (10 mL). A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ e concentrada por pressão reduzida. O produto foi purificado por coluna cromatográfica, levando a um sólido branco (275 mg, 68%).

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 7,91 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H) ,7,33 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 6,65 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 6,38 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 3,84 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 1,60 (s, 6H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 165,4, 158,6, 156,6, 150,2, 145,6, 132,4, 129,6, 129,1, 105,9, 105,7, 101,3, 100,6, 56,0, 25,4, 21,7.

5.2.5. Preparação da 2-hidroxi-4-metoxibenzoato de metila (135)



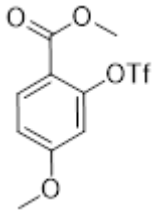
Em um balão, munido de agitação magnética e atmosfera de N_2, adicionou-se iodometano (18,0 mmol, 1,12 mL), o composto **134** (10,0 mmol, 1,68 g), trietilamina (11,0 mmol, 1,53 mL) e DMF (10 mL), e em seguida mantendo-se a reação sob

temperatura de refluxo (150°C) por 1 hora. Após este período a reação foi finalizada com água (50 mL) e extraída com acetato de etila (3 × 50 mL). A fase orgânica foi lavada com solução de HCl 10% (20 mL), com solução saturada de $NaHCO_3$ (20 mL) e seca com $MgSO_4$. Por fim, o solvente foi removido por pressão reduzida e o produto purificado por coluna cromatográfica, levando a um sólido branco (1,32 g, 73%).

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 10,98 (s, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,45-6,42 (m, 2H), 3,91 (s, 3H), 3,82 (s, 3H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 170,4, 165,6, 163,7, 131,2, 107,5, 105,4, 100,6, 55,4, 52,0.

5.2.6. Preparação da 4-metoxi-2-(((trifluormetil)sulfonil)oxi)benzoato de metila (136)

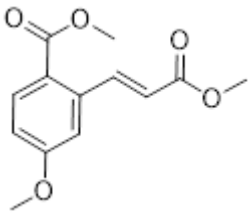


Em um balão, munido de agitação magnética e atmosfera de N_2, contendo o composto **135** (6,97 mmol, 1,27 g) e piridina (15 mL), adicionou-se anidrido tríflico (10,45 mmol, 1,75 mL) à 0°C, após a adição a temperatura foi mantida e a reação agitada por 1,5 hora. Após o término da reação, a mistura reacional foi diluída com acetato de etila (70 mL), lavada com soluções de $CuSO_4$ (3 × 40 mL) e NaCl (40 mL). A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ e concentrada por pressão reduzida, levando a um óleo amarelo claro (1,07 g, 49%).

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 8,06 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,96 (dd, *J* = 8,8 Hz, *J* = 2,8 Hz, 1H), 6,77 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,88 (s, 3H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 163,9, 149,6, 134,1, 120,3, 117,1, 116,3, 113,4, 108,9, 56,0, 52,3.

5.2.7. Preparação da (E)-4-metoxi-2-(3-metoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)benzoato de metila (137)



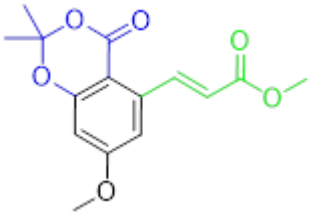
Em um vial de micro-ondas, munido de agitação magnética, contendo LiCl (0,69 mmol, 29,0 mg), acrilato de metila (1,0 mmol, 0,09 mL), DMF (11 mL) e trietilamina (1,53 mmol, 0,22 mL), adicionou-se o composto **136** (0,20 mmol, 63,0 mg) e $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (0,02 mmol, 14,0 mg). A mistura reacional foi aquecida a 140°C e agitada por 1 hora em reator de micro-ondas. Após este tempo, a reação foi extraída com água (20 mL) e acetato de etila (3 × 20 mL). A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ e concentrada por pressão reduzida. O produto foi purificado por coluna cromatográfica, levando a um sólido branco (40 mg, 80%).

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 8,51 (d, *J* = 16,0 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,03 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 6,93 (dd, *J* = 8,8 Hz, J = 2,8 Hz, 1H), 6,27 (d, *J* = 16,0 Hz, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 3,82 (s, 3H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 166,9, 166,7, 162,6, 144,4, 139,0, 133,1, 121,8, 120,8, 114,6, 113,1, 55,5, 52,1, 51,8.

CG-EM (70 eV, *m/z*, abundância relativa, %): 250 (3), 191 (100), 148 (24), 117 (12), 77 (19).

5.2.8. Preparação de (E)-3-(7-metoxi-2,2-dimetil-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]dioxina-5-il)acrilato (138)



Em um vial de micro-ondas, munido de agitação magnética, contendo LiCl (1,53 mmol, 65,25 mg), acrilato de metila (2,25 mmol, 0,20 mL), DMF (11 mL) e trietilamina (1,53 mmol, 0,22 mL), adicionou-se o composto **127** (0,45 mmol, 160,2 mg) e $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (0,045 mmol, 31,5 mg). A mistura reacional foi aquecida a 140°C e

agitada por 1 hora em reator de micro-ondas. Após este tempo, a reação foi extraída com água (20 mL) e acetato de etila (3 × 20 mL). A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ e concentrada por pressão reduzida. O produto foi purificado por coluna cromatográfica, levando a um sólido amarelado (123 mg, 98%).

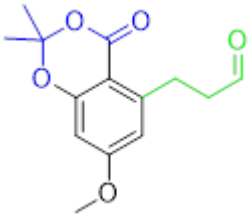
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 8,61 (d, *J* = 16 Hz, 1H), 6,79 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 6,48 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 6,31 (d, *J* = 16 Hz, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,82 (s, 3H), 1,72 (s, 6H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 166,7, 165,0, 159,7, 158,9, 143,1, 140,4, 121,9, 109,7, 105,5, 104,6, 102,4, 55,8, 51,8, 25,6.

CG-EM (70 eV, m/z, abundância relativa, %): 292 (8), 234 (100), 206 (42), 176 (48), 147 (49).

EMAR-ESI (*m/z*): $[M+H]^+$ calculado para $C_{15}H_{17}O_6$ 293,1025; encontrado 293,1033.

5.2.9. Preparação da 3-(7-metoxi-2,2-dimetil-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]dioxina-5-il)propanal (139)

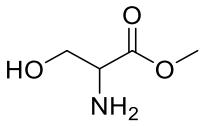


Em um vial de micro-ondas, munido de agitação magnética, contendo LiCl (1,53 mmol, 65,25 mg), álcool alílico (2,25 mmol, 0,15 mL), DMF (11 mL) e trietilamina (1,53 mmol, 0,22 mL), adicionou-se o composto **127** (0,45 mmol, 160,2 mg) e $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (0,045 mmol, 31,5 mg). A mistura reacional foi aquecida a 140°C e agitada por 1 hora em reator de micro-ondas. Após este tempo, a reação foi extraída com água (20 mL) e acetato de etila (3 × 20 mL). A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ e concentrada por pressão reduzida. O produto foi purificado por coluna cromatográfica, levando a um sólido amarelado (68,9 mg, 58%).

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 9,82 (t, *J* = 1,4 Hz, 1H), 6,51 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 6,33 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 3,34 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 2,80 (td, *J* = 7,4 Hz, 1,4 Hz, 2H), 3,83 (s, 3H), 1,70 (s, 6H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 201,6, 165,0, 160,1, 159,3, 147,4, 112,7, 105,1, 104,7, 99,9, 55,6, 44,6, 27,5, 25,6.

5.2.10. Preparação de serinato de metila (141)

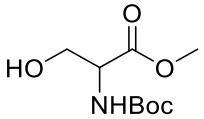


Em balão bi-tubulado, munido de agitação magnética, atmosfera de N_2 e condensador de refluxo, foi adicionado o composto **140** (28,5 mmol, 3 g) e metanol (50 mL), formando uma suspensão. Em seguida, foi adicionado cloreto de tionila (37,8 mmol, 2,5 mL) lentamente, mantendo-se a reação sob temperatura de refluxo (65°C) por 5 horas. Após o término da reação, o meio reacional foi concentrado por pressão reduzida e o produto da reação foi purificado por recristalização em tolueno, levando a um sólido cristalino branco. (3,2 g, 95%).

RMN de ^{1}H (400 MHz, CD_3OD, ppm) δ: 4,16 (tap, *J* = 3,8 Hz, 1H), 4,01 (dd, *J* = 12, 4,4 Hz, 1H), 3,95 (dd, *J* = 12, 3,4 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD, ppm) δ: 169,4, 60,7, 56,1, 53,8.

5.2.11. Preparação de (terc-butoxicarbonil)serinato de metila (142)

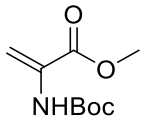


Em um balão bi-tubulado, munido de agitação magnética e atmosfera de N_2, foi adicionado o composto **141** (7 mmol, 1,09 g), diclorometano (16 mL) e trietilamina (15,4 mmol, 2,1 mL). Após resfriar a mistura a 0 °C, foi adicionado dicarbonato de di-*terc*-butila (5,17 mmol, 1,77 mL) lentamente e após 30 minutos a 0°C, a reação foi agitada à temperatura ambiente por 3 horas. Após o término da reação, a mistura reacional foi diluída em acetato de etila e lavada com $KHSO_4$ (20 mL), $NaHCO_3$ (20 mL) e NaCl (20 mL). A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ e concentrada por pressão reduzida. O produto foi purificado por coluna cromatográfica, levando a um óleo incolor (1,28 g, 84%).

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 5,58 (d largo, *J* = 7,4 Hz, 1H), 4,37 (tap, *J* = 3,4 Hz, 1H), 3,97 (dd, *J* = 11, 3,6 Hz, 1H), 3,88 (dd, *J* = 11, 3,5 Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 1,45 (s, 9H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 171,5, 155,9, 80,4, 63,4, 55,9, 52,6, 28,4.

5.2.12. Preparação de 2-((terc-butoxicarbonil)amino) acrilato de metila (143)

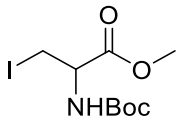


Em um balão bi-tubulado, munido de agitação magnética e sob atmosfera de N_2, foi adicionado cloreto de tosila (1,9 mmol, 362 mg) e DMAP (0,19 mmol, 23 mg) em solução do composto **142** (0,95 mmol, 208 mg) em acetonitrila (1 mL), à temperatura ambiente. Em seguida, foi adicionado lentamente DBU (4,75 mmol, 723 mg) a 0°C. Após voltar o meio reacional à temperatura ambiente e manter a agitação por 2 horas, a mistura foi diluída em acetato de etila (15 mL) e lavada com solução saturada de ácido cítrico (15 mL), água (15 mL) e NaCl (15 mL). A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ e concentrada por pressão reduzida. O produto foi purificado por coluna cromatográfica, levando a um óleo incolor (103 mg, 54%).

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 7,03 (s largo, 1H), 6,16 (s, 1H), 5,73 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 3,83 (s, 3H), 1,49 (s, 9H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 164,4, 152,5, 131,3, 105,2, 80,7, 52,8, 28,2.

5.2.13. Preparação de metil 2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-iodopropanoato (144)

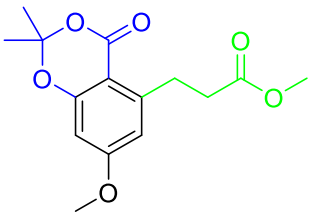


Em balão bi-tubulado, munido de agitação magnética e sob atmosfera de N_2, foi adicionado imidazol (11 mmol, 748 mg) e PPh_3 (11 mmol, 2,9 g) em diclorometano (35,2 mL) à temperatura ambiente. Em seguida, após ser resfriado a 0°C, foi adicionado à solução I_2 (11 mmol, 2,54 g) em 4 porções iguais. Após elevar a temperatura do meio para a temperatura ambiente por 10 minutos, a reação foi novamente resfriada a 0°C, sendo então adicionado uma solução do composto **142** (8,6 mmol, 1,88 g) em diclorometano (8,8 mL). Após manter a agitação por 30 min a 0°C e mais 30 min a t.a., a mistura foi filtrada em sílica e concentrada por pressão reduzida. O produto foi purificado por coluna cromatográfica, levando a um óleo incolor que se solidificava sob resfriamento (2,05 g, 75%).

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 5,38 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,53 (dt, *J* = 7,6 e 3,8 Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,60 (dd, *J* = 10,4 e 3,8 Hz, 1H), 3,56 (dd, *J* = 10,4 e 4,0 Hz, 1H), 1,46 (s, 9H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 170,1, 154,8, 80,5, 53,7, 53,0, 28,3, 7,8.

5.2.14. Preparação de metil 3-(7-metoxi-2,2-dimetil-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]dioxin-5-il)propanoato (145)



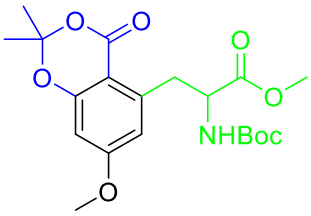
Em recipiente adequado para reator de hidrogenação, munido de agitação magnética, foi adicionado composto **138** (1,78 mmol, 520 mg) e solução de acetato de etila e metanol (12 mL de solução 1:1) e Pd/C (10%), (0,044 mmol, 47 mg). Após adição de atmosfera de H_2, sob pressão de 3,4 atm, a mistura foi agitada sob temperatura ambiente por 16 horas. Após este período, a mistura foi filtrada em sílica e o produto foi purificado por coluna cromatográfica, levando a um óleo amarelado (322 mg, 64%).

RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 6,51 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 6,33 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 3,34 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 2,66 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,66 (s, 3H), 1,70 (s, 6H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ: 173,3, 164,9, 159,9, 159,2, 147,3, 112,5, 104,9, 99,9, 55,5, 51,5, 34,6, 30,0, 25,6.

CG-EM (70 eV, m/z, abundância relativa, %): 294 (3), 236 (36), 208 (21), 176 (100), 148 (11).

5.2.15. Preparação de metil 2-((tert-butoxicarbonil)amino)-3-(7-metoxi-2,2-dimetil-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]dioxin-5-il)propanoato (147)



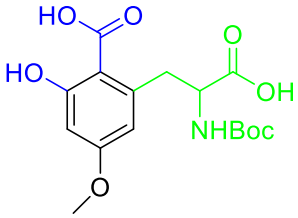
Em um balão bi-tubulado, munido de agitação magnética e sob atmosfera de N_2, foi adicionado zinco em pó (13,5 mmol, 855 mg). Em seguida foi adicionado DMF (1,0 mL) e logo após, foi adicionado cloreto de TMSCl (0,2 mL) para ativação do zinco. Após essa etapa, foi adicionado o composto **144** (1,5 mmol, 493 mg) dissolvido em DMF (1,0 mL) e notou-se desprendimento de calor com a adição. Após um período de 15 minutos, foram adicionados o composto **127** (1 mmol, 356 mg), $Pd_2(dba)_3$ (0,05 mmol, 44 mg) e SPhos (0,1 mmol, 42 mg) e a mistura foi agitada ainda sob temperatura ambiente por 16h. Após este período, a mistura foi filtrada em sílica, concentrada por pressão reduzida e o produto foi purificado por coluna cromatográfica, levando a um sólido marrom (309 mg, 87%).

RMN de ^{1}H (400 MHz, CD_3OD, ppm) δ: 6,51 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 6,36 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 5,39 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,57 (dd, *J* = 8,7, 3,1 Hz, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,74 (s, 3H), 3,56 – 3,48 (m, 2H), 1,71 (s, 6H), 1,34 (s, 9H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD, ppm) δ: 172,6, 164,8, 161,0, 159,0, 155,3, 143,3, 113,7, 105,7, 105,3, 100,5, 79,6, 55,6, 54,6, 53,4, 52,3, 36,2, 28,2, 25,8, 25,3.

EMAR-ESI (*m/z*): $[M+H]^+$ calculado para $C_{20}H_{28}NO_8$, 410,1815; encontrado: 410,1808

5.2.16. Preparação de ácido 2-(2-((tert-butoxicarbonil)amino)-2-carboxietil)-6-hidroxi-4-metoxibenzóico (148)



Em um balão, munido de agitação magnética e condensador de refluxo, foi adicionado o composto **147** (1 mmol, 409 mg), THF (6,8 mL) e solução de KOH de concentração 5 mol/L (6,8 mL). A mistura foi agitada sob temperatura de refluxo (66°C) por 16h. Após o término da reação, a mistura reacional foi acidificada até pH = 1 com uma

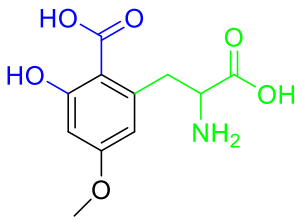
solução de HCl 5% e em seguida, foi diluída em acetato de etila e lavada com água (20 mL) e NaCl (20 mL). A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ e concentrada por pressão reduzida, levando a um sólido amarelado (347 mg, 85%).

RMN de ^{1}H (400 MHz, CD_3OD, ppm) δ: 6,28 (s, 2H), 4,45 (dd, *J* = 10,3, 4,7 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,66 (dd, *J* = 13,1, 4,7 Hz, 1H), 2,87 (dd, *J* = 12,9, 10,4 Hz, 1H), 1,26 (s, 9H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD, ppm) δ: 175,8, 174,3, 167,0, 165,2, 157,8, 143,7, 112,9, 106,4, 100,8, 80,4, 55,8, 39,6, 28,6, 28,3.

EMAR-ESI (*m/z*): $[M-H]^-$ calculado para $C_{16}H_{20}NO_8$, 354,1189; encontrado: 354,1182

5.2.17. Preparação de ácido 2-(2-amino-2-carboxietil)-6-hidroxi-4-metoxibenzóico (1)



Em um balão, munido de agitação magnética, foi adicionado o composto **148** (0,6 mmol, 212 mg), THF (3,85 mL) e solução de HCl de concentração 6 mol/L (3,85 mL). A mistura foi agitada sob temperatura ambiente por 18h. Após o término da reação, a mistura foi concentrada por pressão reduzida e purificada utilizando colunador automatizado, empregando fase reversa C_{18} e fase móvel aditivada com 0,05% de ácido clorídrico concentrado, levando a um sólido cristalino branco (112 mg, 73%).

RMN de ^{1}H (500 MHz, CD_3OD, ppm) δ: 6,42 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H), 6,35 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H), 4,23 (dd, *J* = 9,6, 5,3 Hz, 1H), 3,86 (dd, *J* = 13,6, 5,4 Hz, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,04 (dd, *J* = 13,6, 9,7 Hz, 1H).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d6, ppm) δ: 172,8, 170,9, 165,1, 161,2, 138,6, 111,4, 108,6, 100,0, 54,9, 53,5, 35,2.

EMAR-ESI (*m/z*): $[M+H]^+$ calculado para $C_{11}H_{14}NO_6$, 256,0816; encontrado: 256,0818

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHUJA, S. **Chiral separation by liquid chromatography**. American Chemical Society, 1991, p239

AMBROGELLY, A.; PALIOURA, S.; SÖLL, D. Natural expansion of the genetic code. **Nature Chemical Biology**, v. 3, n. 1, p. 29–35, 2007.

ARMAREGO, W. L. F.; CHAI, C. L. L. **Purification of Laboratory Chemicals**. 5° Ed., Boodmin: MPG Books, 2003.

ATMURI, N. Preparation of N-(Boc)-Allylglycine Methyl Ester Using a Zinc-mediated, Palladium-catalyzed Cross-coupling Reaction. **Organic Syntheses**, v. 92, n. Note 1, p. 103–116, 2015.

BARRETTI, P. Star fruit intoxication in chronic kidney disease patients: from the first clinical description to caramboxin. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 37, n. 4, p. 429–430, 2015.

BASTOS, D. C. A Cultura da carambola. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 2, p. 193–384, jun. 2008.

BERESFORD, K. J. M.; CHURCH, N. J.; YOUNG, D. W. Synthesis of α-amino acids by ring opening of aziridine-2-carboxylates with carbon nucleophiles. **Tetrahedron Letters**, v. 36, n. 1, p. 151–154, jan. 1995.

BERG, J.; TYMOCZKO, J.; STRYER, L. **Biochemistry, 5° ed.**, New York: W.H. Freeman, 2002.

BERTHIOL, F.; DOUCET, H.; SANTELLI, M. Synthesis of β-aryl ketones by tetraphosphine/palladium catalysed Heck reactions of 2- or 3-substituted allylic alcohols with aryl bromides. **Tetrahedron**, v. 62, n. 18, p. 4372–4383, 2006.

BOLTE, B. et al. Modular Total Syntheses of the Marine-Derived Resorcylic Acid Lactones Cochliomycins A and B Using a Late-Stage Nozaki-Hiyama-Kishi Macrocyclization Reaction. **Journal of Organic Chemistry**, v. 80, n. 1, p. 460–470, 2015.

BRITTAIN, W. D. G.; COBB, S. L. Negishi cross-couplings in the synthesis of amino acids. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 10–20, 2017.

HINES, P. J. Editors' Choice. **Science**, v. 342, n. 6164, p1292, 2013.

CABRI, W. et al. 1,10-Phenanthroline Derivatives: A New Ligand Class in the Heck Reaction. Mechanistic Aspects. **Journal of Organic Chemistry**, v. 58, n. 26, p. 7421–7426, 1993.

CAROLINO, R. O. G. et al. Convulsant activity and neurochemical alterations induced by a fraction obtained from fruit Averrhoa carambola (Oxalidaceae: Geraniales). **Neurochemistry International**, v. 46, n. 7, p. 523–531, 2005.

CHAKRABORTY, T. K.; AZHAR HUSSAIN, K.; VENKAT REDDY, G. A-Phenylglycinol As Chiral Auxiliary in Diastereoselective Strecker Synthesis of A-Amino Acids. **Tetrahedron**, v. 51, n. 33, p. 9179–9190, 1995.

CHEN, C. L. et al. Acute oxalate nephropathy after ingestion of star fruit. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 37, n. 2, p. 418–422, 2001.

COLACOT, T. J.; SNIECKUS V. et al. Palladium-catalyzed cross-coupling: A historical contextual perspective to the 2010 nobel prize. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 21, p. 5062–5085, 2012.

COLUCCI, P. et al. A review of the pharmacokinetics of levothyroxine for the treatment of hypothyroidism. **European Endocrinology**, v. 9, n. 1, p. 40–47, 2013.

CURIS, E. et al. Almost all about citrulline in mammals. **Amino Acids**, v. 29, n. 3, p. 177–205, 2005.

DAVE, R. H.; HOSANGADI, B. D. A simple and efficient diastereoselective Strecker synthesis of optically pure α-arylglycines. **Tetrahedron**, v. 55, n. 37, p. 11295–11308, 1999.

DE MELLO, M. B. M. et al. An alternative approach to differentially substituted 2-oxazoline chalcogen derivatives. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 794, p. 11–16, 2015.

DEL BEL, M. et al. Enantioselective Chemical Syntheses of the Furanosteroids (-)-Viridin and (-)-Viridiol. **Journal of the American Chemical Society**, v. 139, n. 20, p. 6819–6822, 2017.

DIETZ, C. et al. Structural verification via convergent total synthesis of dipeptide–lipids isolated from Porphyromonas gingivalis. **Tetrahedron**, v. 72, n. 47, p. 7557–7569, 2016.

DÖMLING, A.; UGI, I. Multicomponent Reactions with Isocyanides. **Angewandte Chemie**, v. 39, n. 18, p. 3168–3210, 2000.

ERMER, T. et al. Oxalate, inflammasome, and progression of kidney disease. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, v. 25, n. 4, p. 363–371, 2016.

FERREIRA, E. B. et al. Hypoglycemic effect of the hydroalcoholic extract of leaves of Averrhoa carambola L. (Oxalidaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 3, p. 339–343, 2008.

FERREIRA, P. M. T.; MAIA, H. L. S.; MONTEIRO, L. S. High yielding synthesis of heterocyclic β-substituted alanine derivatives. **Tetrahedron Letters**, v. 40, n. 21, p. 4099–4102, 1999.

FYFE, J. W. B.; WATSON, A. J. B. Recent Developments in Organoboron Chemistry: Old Dogs, New Tricks. **Chem.**, v. 3, n. 1, p. 31–55, 2017.

GARCIA-CAIRASCO, N. et al. Elucidating the neurotoxicity of the star fruit. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 52, n. 49, p. 13067–13070, 2013.

WUTS, P. G. M.; ZER, P.; GREENE, T. W. **Greene's Protective Groups in Organic Synthesis**. 5° Ed. John Wiley & Sons, Inc., 2007.

GHOSH, S.; PRADHAN, T. K. Stereoselective total synthesis of (+)-Varitriol, (-) Varitriol, 5'-epi-(+)-Varitrioiol, and 4'-epi-(-)Varitriol from D-Mannitol. **Journal of Organic Chemistry**, v. 75, n. 6, p. 2107–2110, 2010.

HECK, R. F. The Palladium-Catalyzed Arylation of Enol Esters, Ethers, and Halides. A New Synthesis of 2-Aryl Aldehydes and Ketones. J**ournal of the American Chemical Society**, v. 90, n. 20, p. 5535–5538, 1968.

HECK, K. F.; NOLLEY, J. P. Palladium-Catalyzed Vinylic Hydrogen Substitution Reactions with Aryl, Benzyl, and Styryl Halides. **Journal of Organic Chemistry**, v. 37, n. 14, p. 2320–2322, 1972.

HILL, R. A.; SUTHERLAND, A. Hot off the Press. **Natural Product Reports**, v. 35, n. 8, p. 702–706, 2018.

HIRAI, S. et al. Formal total synthesis of (-)-taxol through Pd-catalyzed eight-membered carbocyclic ring formation. **Chemistry - A European Journal**, v. 21, n. 1, p. 355–359, 2015

HOBBS, P. D. et al. The first stereospecific synthesis of michellamine B. **Chemical Communications**, n. 8, p. 923–924, 1996.

HUANG, P. Q.; YAO, Z. J.; HSUNG, R. P. **Efficiency in Natural Product Total Synthesis**. 1° Ed. John Wiley & Sons, Inc., 2018.

HUDSON, A. S. et al. A direct method for the synthesis of orthogonally protected furyl- and thienyl- amino acids. **Amino Acids**, v. 47, n. 4, p. 779–785, 2015.

KAISE, H.; SHIMOKAWA, J.; FUKUYAMA, T. TMSCN/DBU-mediated facile redox transformation of α,β- unsaturated aldehydes to carboxylic acid derivatives. **Organic Letters**, v. 16, n. 3, p. 727–729, 2014.

KAPPE, C. O. Controlled Microwave Heating in Modern Organic Synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 43, n. 46, p. 6250–6284, 2004.

KASPERKIEWICZ, P.; GAJDA, A. D.; DRĄG, M. Current and prospective applications of non-proteinogenic amino acids in profiling of proteases substrate specificity. **Biological Chemistry**, v. 393, n. 9, p. 843–851, 2012.

KING, A. O.; OKUKADO, N.; NEGISHI, E. Highly general stereo-, regio-, and chemo-selective synthesis of terminal and internal conjugated enynes by the Pd-catalysed reaction of alkynylzinc reagents with alkenyl halides. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, n. 19, p. 683, 1977.

KOUZNETSOV, V. V.; GALVIS, C. E. P. Strecker reaction and α-amino nitriles: Recent advances in their chemistry, synthesis, and biological properties. **Tetrahedron**, v. 74, n. 8, p. 773–810, 2018.

KÜMMERLE, A. E. et al. Design, synthesis and analgesic properties of novel conformationally-restricted N-acylhydrazones (NAH). **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 17, p. 4963–4966, 2009.

KUNZ, H. et al. Reversal of asymmetric induction in stereoselective strecker synthesis on galactosyl amine as the chiral matrix. **Tetrahedron Letters**, v. 29, n. 35, p. 4397–4400, jan. 1988.

LI, B. et al. Aqueous phosphoric acid as a mild reagent for deprotection of tert-butyl carbamates, esters, and ethers. **Journal of Organic Chemistry**, v. 71, n. 24, p. 9045–9050, 2006.

JACKSON, R. F. W.; WYTHES, M. J.; WOOD, A. Synthesis of enantiomerically pure protected β-aryl alanines. **Tetrahedron Letters**, v. 30, n. 43, p. 5941–5944, jan. 1989.

JEFFREYS, D. **Aspirin: The Story of a Wonder Drug**. Bloomsbury, 2004.

LIU, Q.; HU, P.; HE, Y. Asymmetric Total Synthesis of Nannocystin A. **Journal of Organic Chemistry**, v. 82, n. 17, p. 9217–9222, 2017.

LOU, S.; SCHAUS, S. E. Asymmetric Petasis Reactions Catalyzed by Chiral Biphenols. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 22, p. 6922–6923, jun. 2008.

MALUENDA, I.; NAVARRO, O. Recent developments in the Suzuki-Miyaura reaction: 2010-2014. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 7528–7557, 2015.

MITSUNOBU, O. The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products. **Synthesis**, v. 1981, n. 01, p. 1–28, 1981.

MIZOROKI, T.; MORI, K.; OZAKI, A. Arylation of Olefin with Aryl Iodide Catalyzed by Palladium. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 44, n. 2, p. 581–581, fev. 1971.

MONTALBETTI, C. A. G. N.; FALQUE, V. Amide bond formation and peptide coupling. **Tetrahedron**, v. 61, n. 46, p. 10827–10852, 2005.

MUIR, C. K.; LAM, C. K. Depressant action of Averrhoa carambola. **Medical Journal of Malaysia**, v. 34, n. 3, p. 279–280, 1980.

MUTHU, N. et al. Nutritional, Medicinal and Toxicological Attributes of Star-Fruits (*Averrhoa Carambola* L.): A review. v. 12, n. 12, p. 420–424, 2016.

NÁJERA, C.; SANSANO, J. M. Catalytic asymmetric synthesis of α-amino acids. **Chemical Reviews**, v. 107, n. 11, p. 4584–4671, 2007.

NEJJAR, A.; PINEL, C.; DJAKOVITCH, L. Heck Arylation of α,β-Unsaturated Aldehydes. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v. 345, n. 5, p. 612–619, maio 2003.

NETO, M. M. et al. Star fruit: Simultaneous neurotoxic and nephrotoxic effects in people with previously normal renal function. **NDT Plus**, v. 2, n. 6, p. 485–488, 2009.

NETO, M. M.; ROBL, F.; NETTO, J. C. Nephrology Dialysis Transplantation Intoxication by star fruit (Averrhoa carambola) in six dialysis patients ? (Preliminary report) Case reports. **Star**, p. 570–572, 1998.

NICOLAOU, K. C. et al. Total synthesis of taxol. **Nature**, v. 367, n. 6464, p. 630–634, 17 fev. 1994

NICOLAOU, K. C. et al. The Art and Science of Total Synthesis at the Dawn of the Twenty-First Century. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 39, n. 1, p. 44–122, 2000.

NICOLAOU, K. C.; BULGER, P. G.; SARLAH, D. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions in total synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 29, p. 4442–4489, 2005.

NICOLAOU, K. C. Inspirations, discoveries, and future perspectives in total synthesis. **Journal of Organic Chemistry**, v. 74, n. 3, p. 951–972, 2009.

OLIVEIRA, E. S. M. DE; AGUIAR, A. S. DE. Why eating star fruit is prohibited for patients with chronic kidney disease? **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 37, n. 2, p. 241–247, 2015.

OTUKI, M. F. et al. Analysis of the potential topical anti-inflammatory activity of Averrhoa carambola L. in mice. **Evidence-based Complementary and Alternative**

Medicine, v. 2011, 2011.

PETASIS, N. A.; AKRITOPOULOU, I. The boronic acid mannich reaction: A new method for the synthesis of geometrically pure allylamines. **Tetrahedron Letters**, v. 34, n. 4, p. 583–586, 1993.

PETASIS, N. A.; ZAVIALOV, I. A.; ANGELES, L. A New and Practical Synthesis of α-Amino Acids from Alkenyl Boronic Acids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 7863, n. 12, p. 445–446, 1997.

PICOTIN, G.; MIGINIAC, P. Activation of Zinc By Trimethylchlorosilane: An Improved Procedure For The Preparation of β-hydroxy Esters From Ethyl Bromoacetate And Aldehydes Or Ketones (reformatsky Reaction). **Journal of Organic Chemistry**, v. 52, n. 21, p. 4796–4798, 1987.

PORTAL G1. Substância tóxica da carambola pode causar insuficiência renal, diz USP. Disponível em: <http://g1.globo.com/sp/ribeirao-preto-franca/noticia/2013/12/substancia-toxica-da-carambola-pode-causar-insuficiencia-renal-diz-usp.html> Acesso em: 16 de agosto de 2016.

QUINTILIANO, S. A. P.; SILVA, L. F. Practical synthesis of a functionalized 1-oxo-1,2,3,4- tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid. **Tetrahedron Letters**, v. 53, n. 29, p. 3808–3810, 2012.

RAVIÑA, E. **The Evolution of Drug Discovery**. 1° Ed. Wiley-VCH, 2011.

RAY, P. K. **Breeding Tropical and Subtropical Fruits**. 1° Ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2002.

RILATT, I.; CAGGIANO, L.; JACKSON, R. F. W. Development and applications of amino acid derived organometallics. **Synlett**, n. 18, p. 2701–2719, 2005.

RIVA, R. Enantioselective four-component Ugi reactions. **Science (New York, N.Y.)**, v. 361, n. 6407, p. 1072–1073, 2018.

ROSS, A. J.; LANG, H. L.; JACKSON, R. F. W. Much improved conditions for the Negishi cross-coupling of iodoalanine derived zinc reagents with aryl halides. **Journal of Organic Chemistry**, v. 75, n. 1, p. 245–248, 2010.

ROSS, A. J. et al. Evidence for the role of tetramethylethylenediamine in aqueous negishi cross-coupling: Synthesis of nonproteinogenic phenylalanine derivatives on water. **Journal of Organic Chemistry**, v. 76, n. 6, p. 1727–1734, 2011.

SAJEWICZ, M. et al. Experimental and model investigation of the oscillatory transenantiomerization of L-α-phenylalanine. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 31, n. 13, p. 1986–2005, 2008.

SHEN, R. et al. Lobatamide C: Total Synthesis, Stereochemical Assignment, Preparation of Simplified Analogues, and V-ATPase Inhibition Studies. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 26, p. 7889–7901, jul. 2003.

SOLOSHONOK, V. A.; SOROCHINSKY, A. E. Practical methods for the synthesis of symmetrically α,α- disubstituted α-amino acids. **Synthesis**, n. 14, p. 2319–2344, 2010.

SUHARTONO, M. et al. Synthetic aromatic amino acids from a negishi cross-coupling reaction. **Synthesis**, n. 2, p. 293–303, 2010.

SWEENEY, J. B. Aziridines: Epoxides' ugly cousins? **Chemical Society Reviews**, v. 31, n. 5, p. 247–258, 2002.

TIETZE, L. F.; NOBEL, T.; SPESCHA, M. Synthesis of enantiopure estrone via a double heck reaction. **Journal of the American Chemical Society**, v. 120, n. 35, p. 8971–8977, 1998.

TUTTLE, J. B. et al. Synthesis of ortho-substituted nitroaromatics via improved Negishi coupling conditions. **Tetrahedron Letters**, v. 52, n. 41, p. 5211–5213, 2011.

UGI, I.; WERNER, B.; DÖMLING, A. The chemistry of isocyanides, their multicomponent reactions and their libraries. **Molecules**, v. 8, n. 1, p. 53–66, 2003.

USUKI, T. et al. Improved Negishi Cross-Coupling Reactions of an Organozinc Reagent Derived from *L*-Aspartic Acid with Monohalopyridines. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 51, n. 1, p. 269–273, jan. 2014.

WAINER, I.W. **HPLC chiral stationary phases for the steriochemical resolution of enantiomeric compounds. The current state of the art**. 2° Ed. New York: Dekker, 1993. p.139-182.

WANG, J.; LIU, X.; FENG, X. Asymmetric Strecker Reactions. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 11, p. 6947–6983, 2011.

WANG, Q. et al. Still Unconquered: Enantioselective Passerini and Ugi Multicomponent Reactions. **Accounts of Chemical Research**, v. 51, n. 5, p. 1290–1300, 2018.

WATANABE, M. et al. GABA and GABA Receptors in the Central Nervous System and Other Organs. **International Review of Cytology**, v. 213, p. 1–47, 2002.

WATKINS, J. C.; EVANS, R. H. Excitatory Amino Acid Transmitters. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 21, n. 1, p. 165–204, 1981.

WENDER, P. A. et al. The pinene path to taxanes. 6. A concise stereocontrolled synthesis of taxol. **Journal of the American Chemical Society**, v. 119, n. 11, p. 2757–2758, 1997.

WERNER, E. W.; SIGMAN, M. S. Operationally simple and highly (E)-styrenyl-selective heck reactions of electronically nonbiased olefins. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, n. 25, p. 9692–9695, 2011.

WILLIANS, R. M. **Synthesis of Optically Active α-Amino Acids**. 1° Ed. Pergamon Press, 1989.

YAACOB, O. The Production of Economic Fruits in South-East Asia.Oxford University Press, 1995.

YANG, Y. Q. et al. Facile access to α,β-dehydroalanine and α,β-dehydroamino butyric acid derivatives from DL-serines and threonines. **Synthetic Communications**, v. 46, n. 11, p. 977–982, 2016.

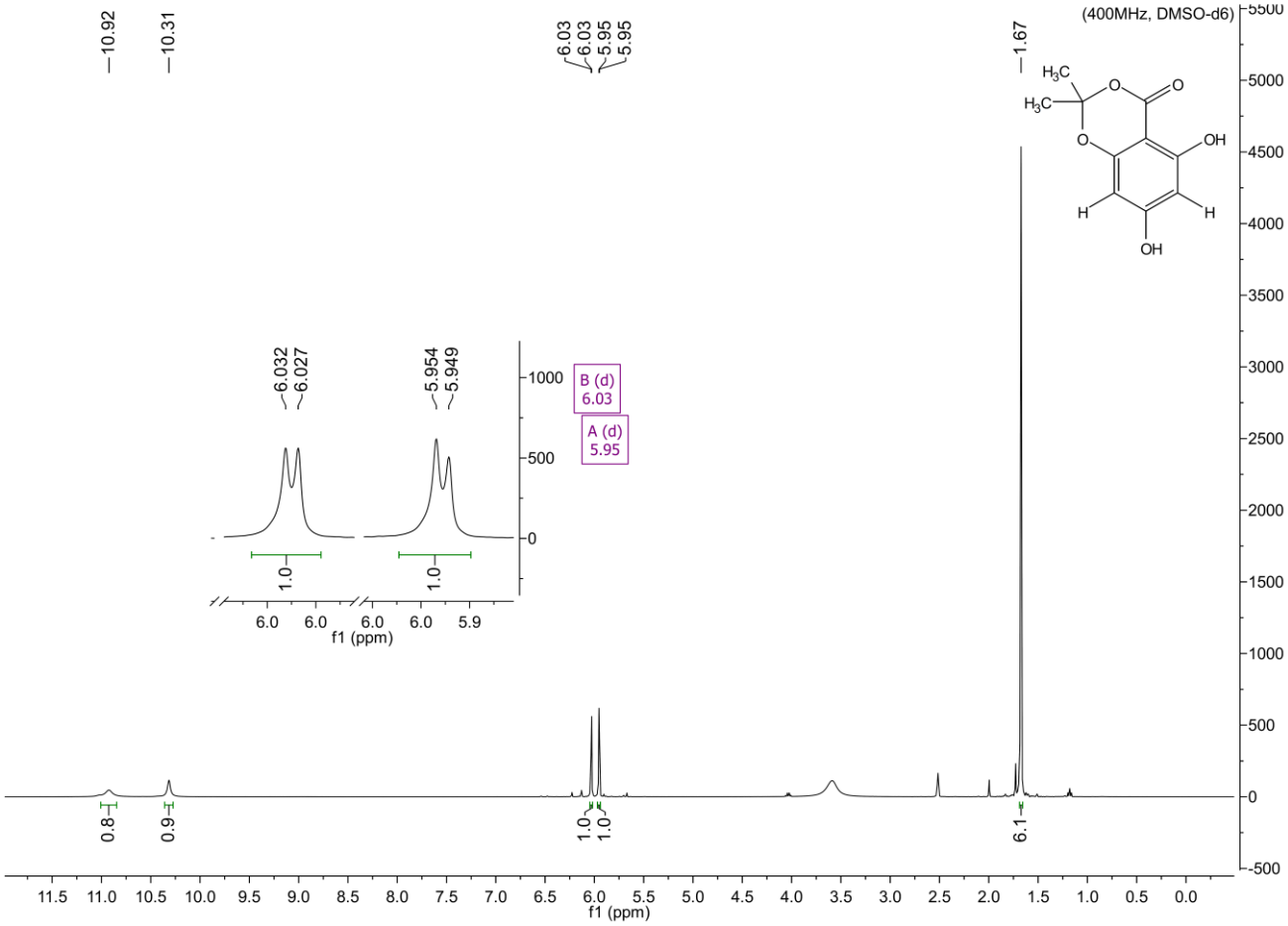
ZANARDI, F. et al. γ-Substituted pyrrole-based silyl dienol ethers as α-amino acid enolate equivalents: a versatile entry to racemic α-substituted α-amino acids. **J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1**, n. 19, p. 2471–2475, 1995.

ZENG, F.; NEGISHI, E. I. A novel, selective, and efficient route to carotenoids and related natural products via Zr-catalyzed carboalumination and Pd- and Zn-catalyzed cross coupling. **Organic Letters**, v. 3, n. 5, p. 719–722, 2001.

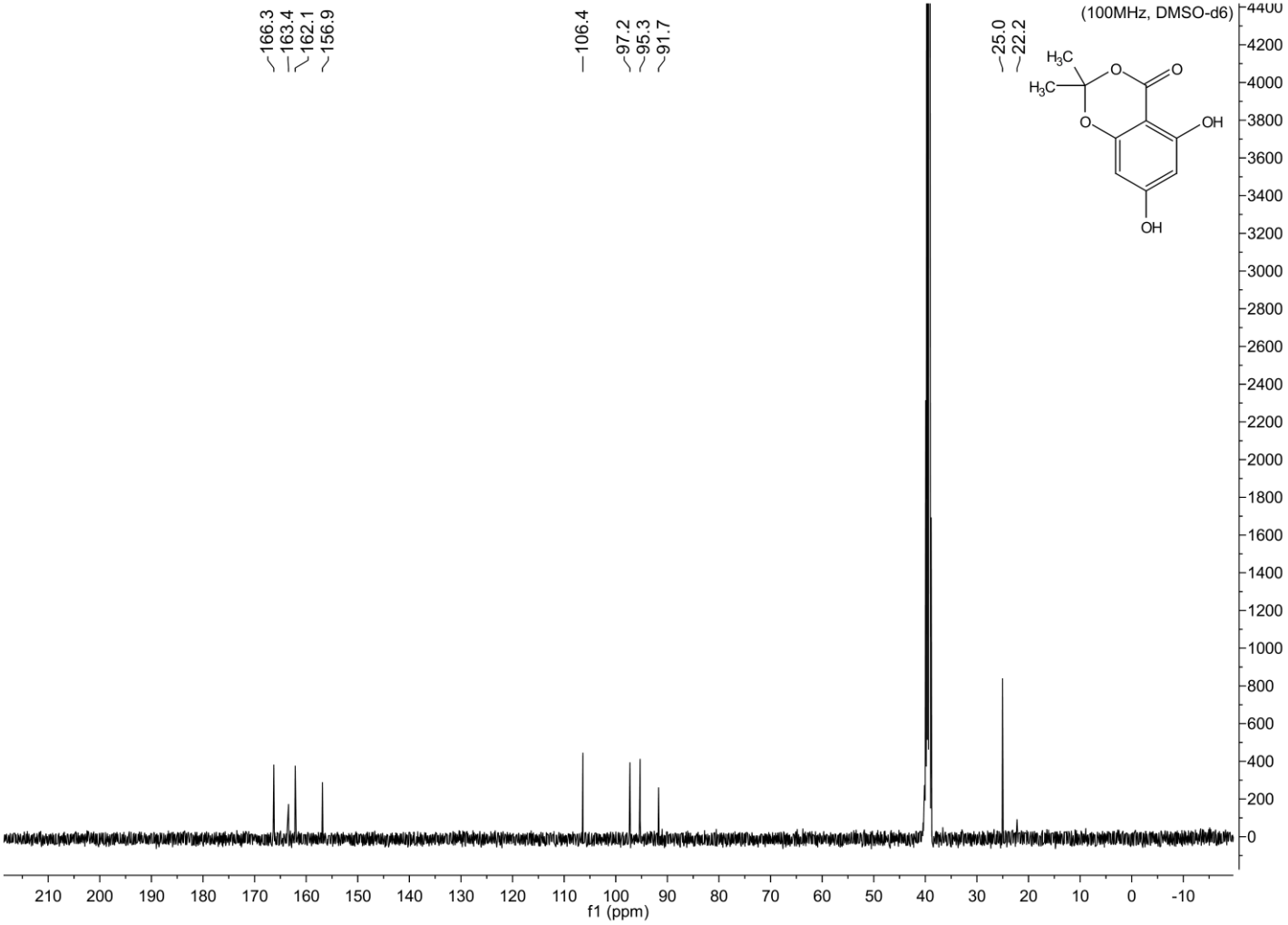
ZHANG, J. et al. Asymmetric phosphoric acid-catalyzed four-component Ugi reaction. **Science**, v. 361, n. 6407, 2018.

APÊNDICE

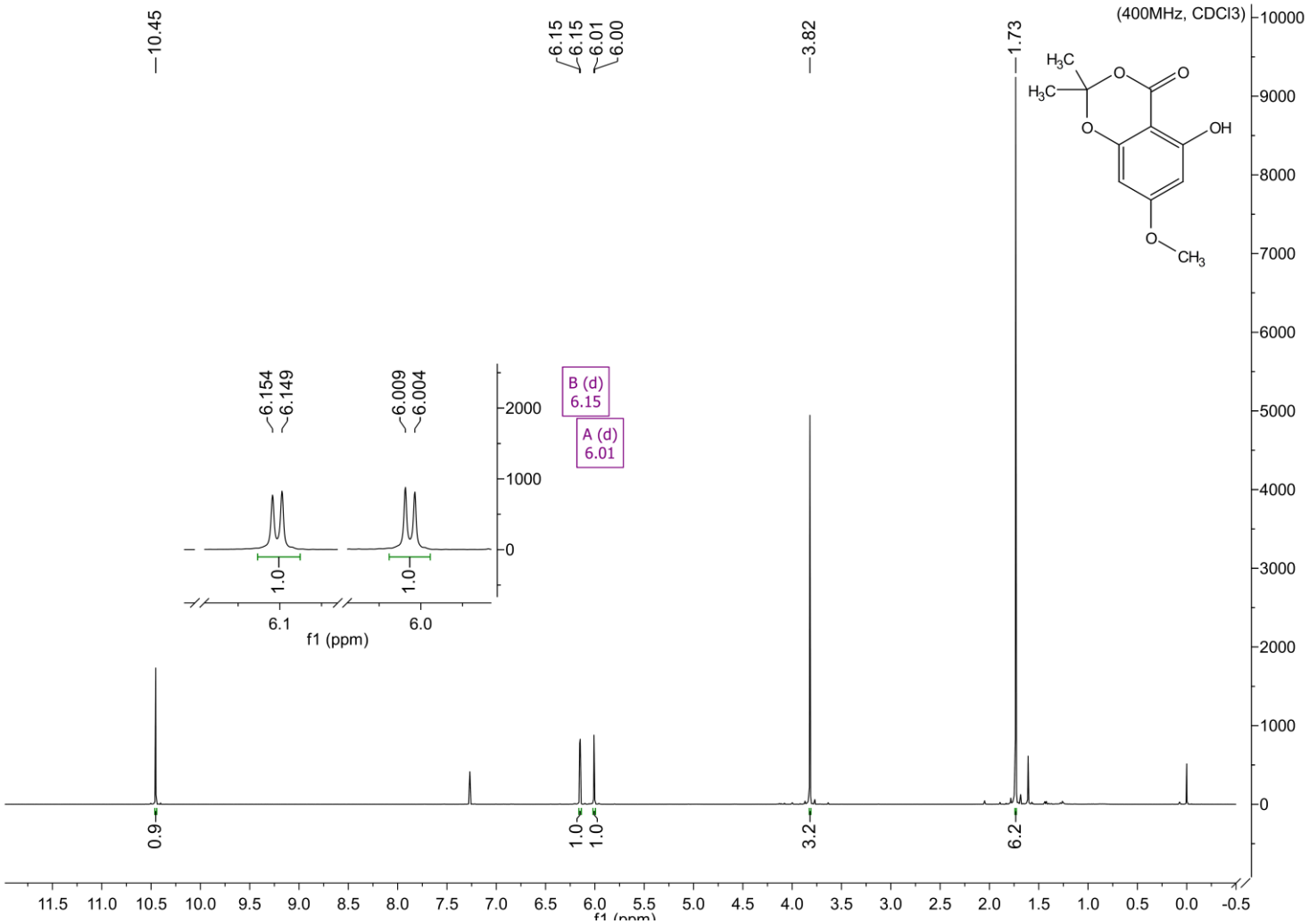
RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6): 5,7-dihidroxi-2,2-dimetil-4H-benzo[*d*][1,3]dioxin-4-ona (**125**)



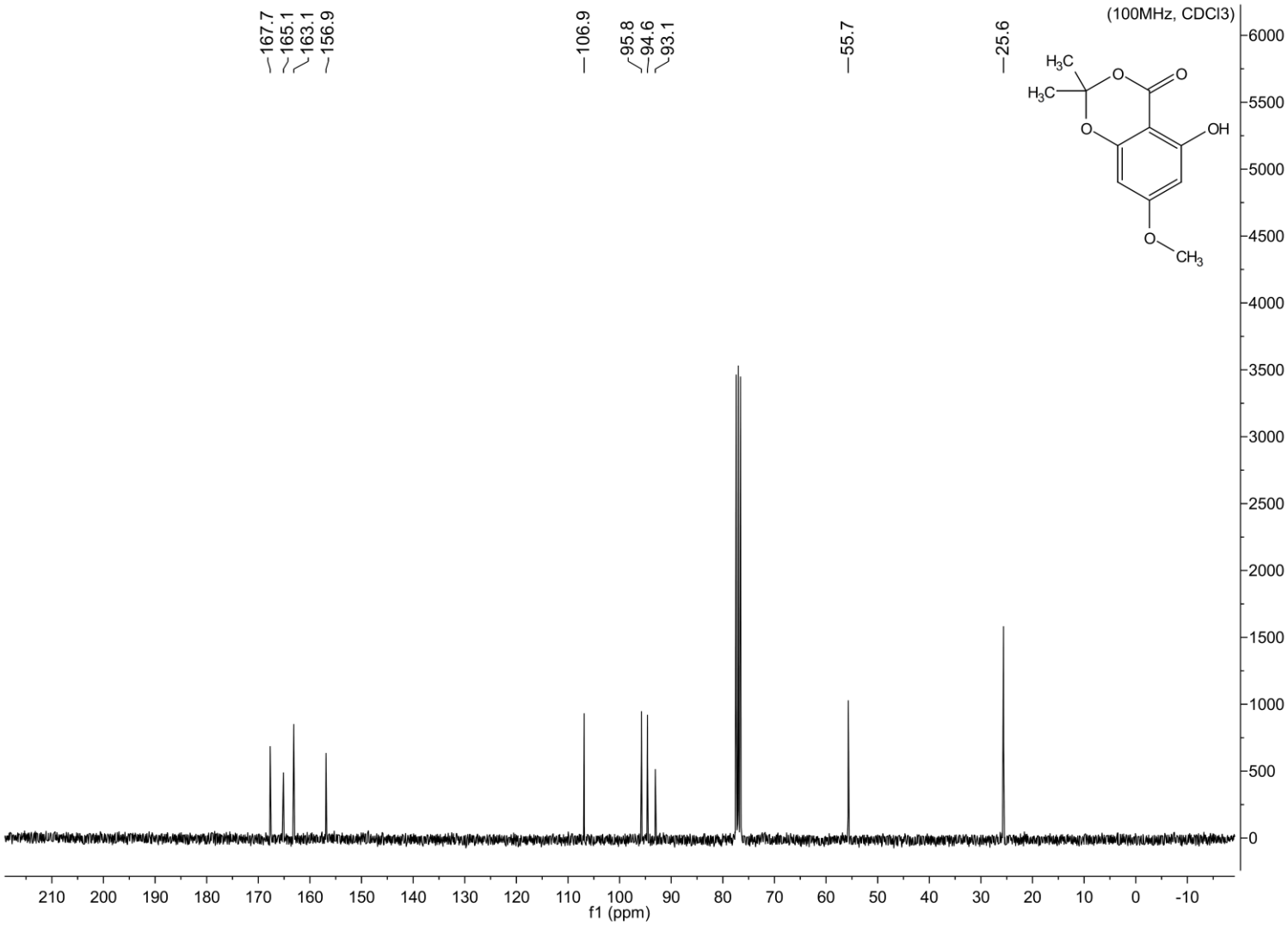
RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): 5,7-dihidroxi-2,2-dimetil-4H-benzo[*d*][1,3]dioxin-4-ona (**125**)



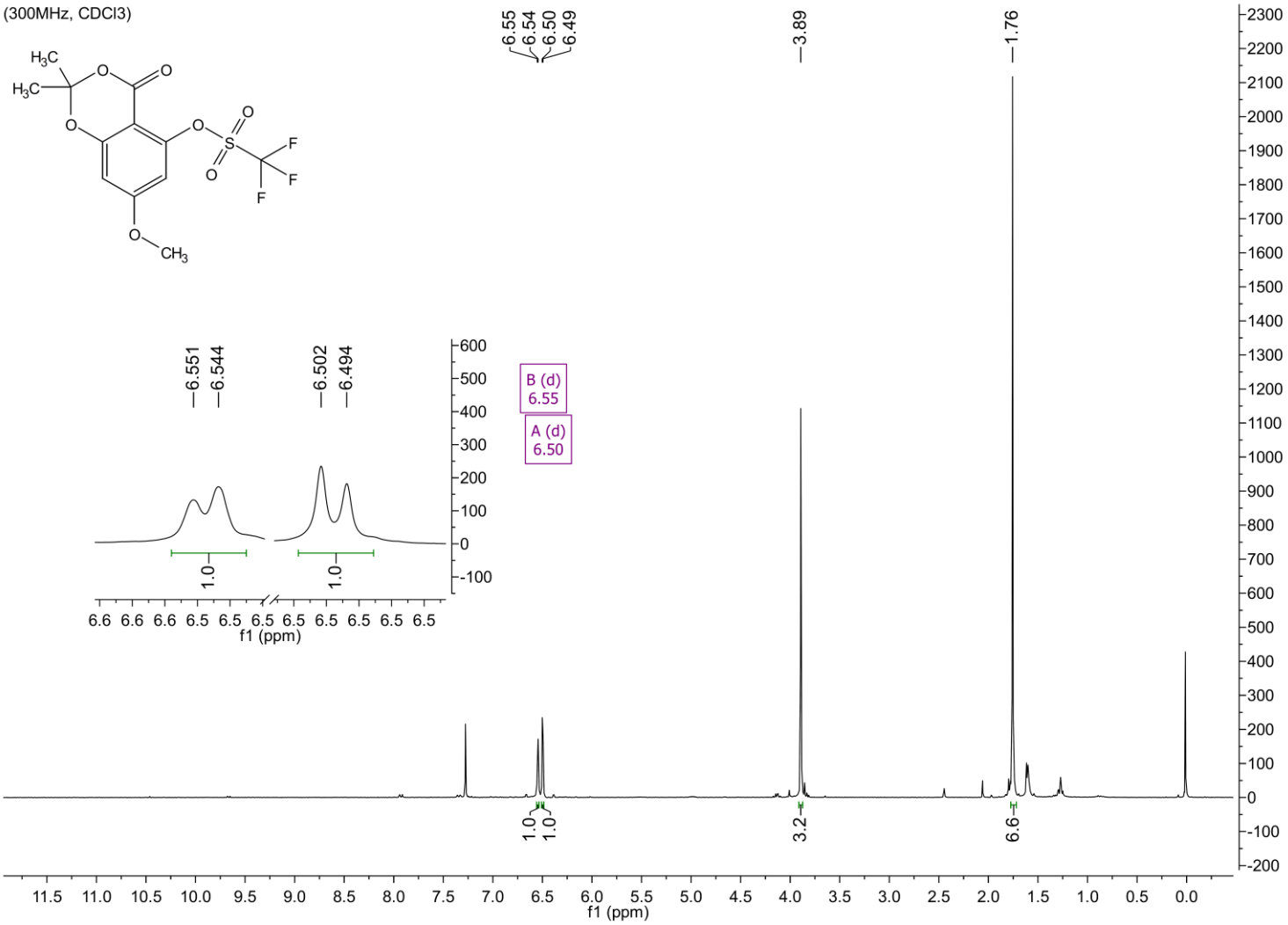
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): 5-hidroxi-7-metoxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]dioxin-4-ona (**126**)



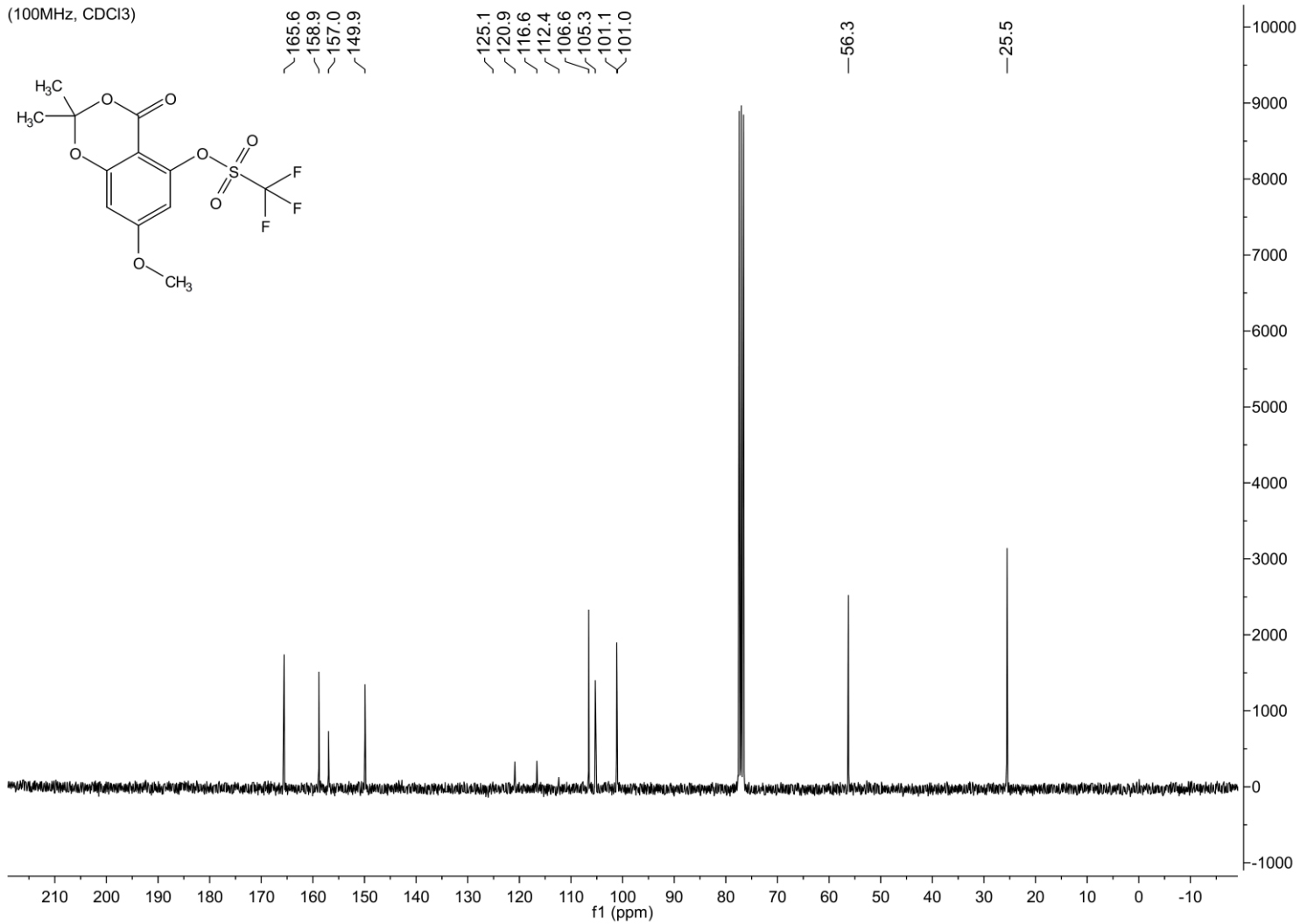
RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): 5-hidroxi-7-metoxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]dioxin-4-ona (**126**)



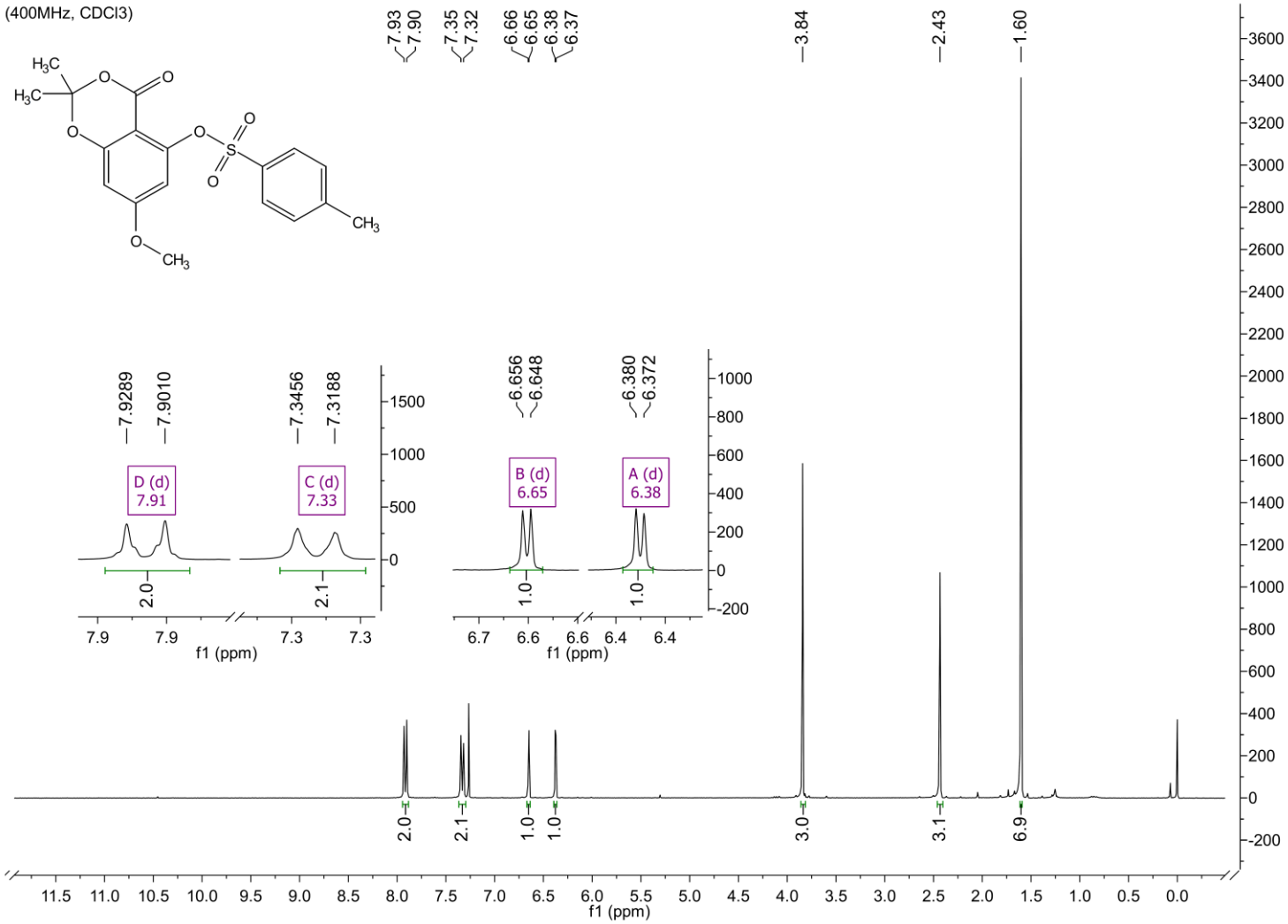
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): trifluormetanosulfonato de 7-metoxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]dioxin-5-il (**127**)



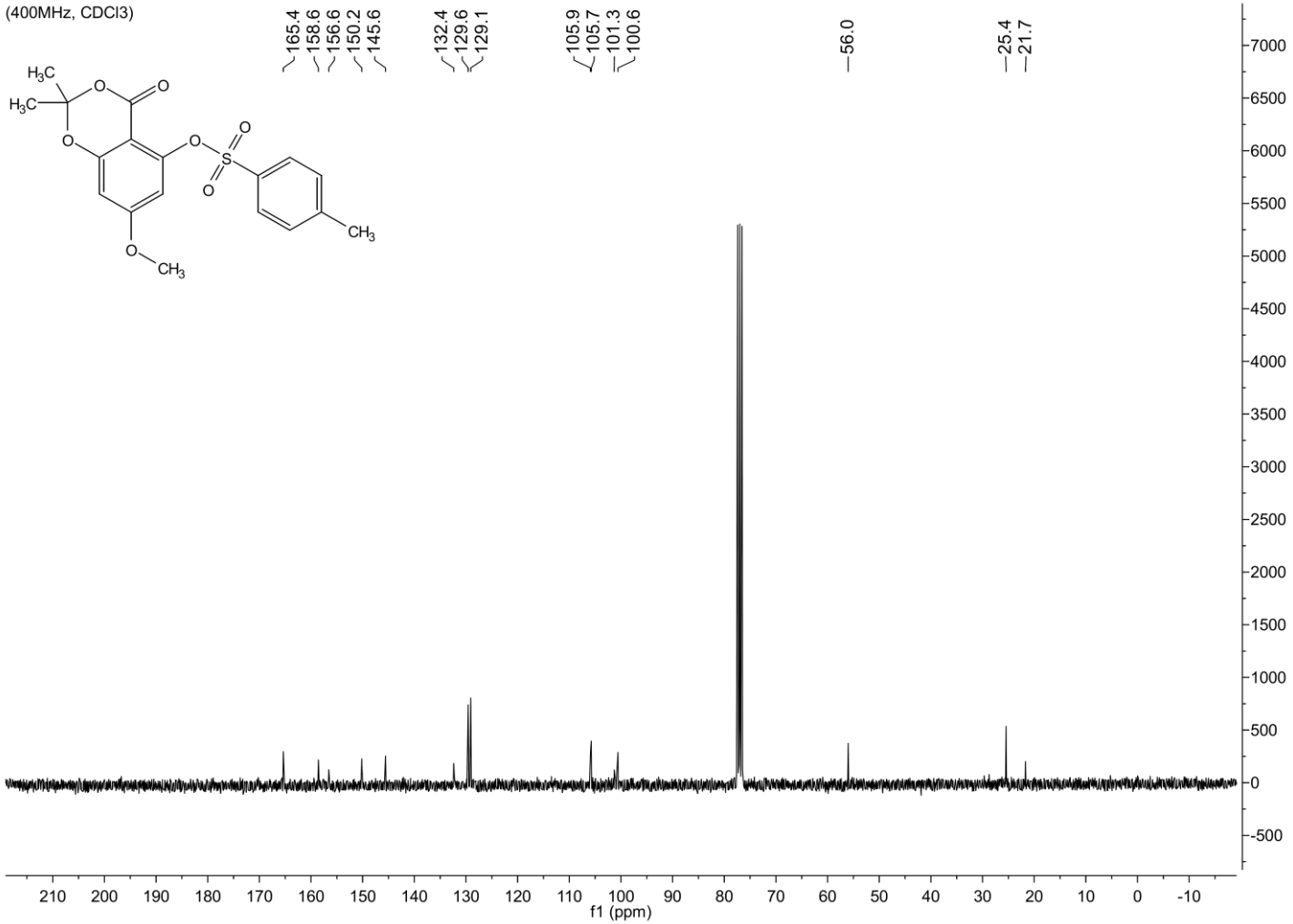
RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): trifluormetanosulfonato de 7-metoxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]dioxin-5-il (**127**)



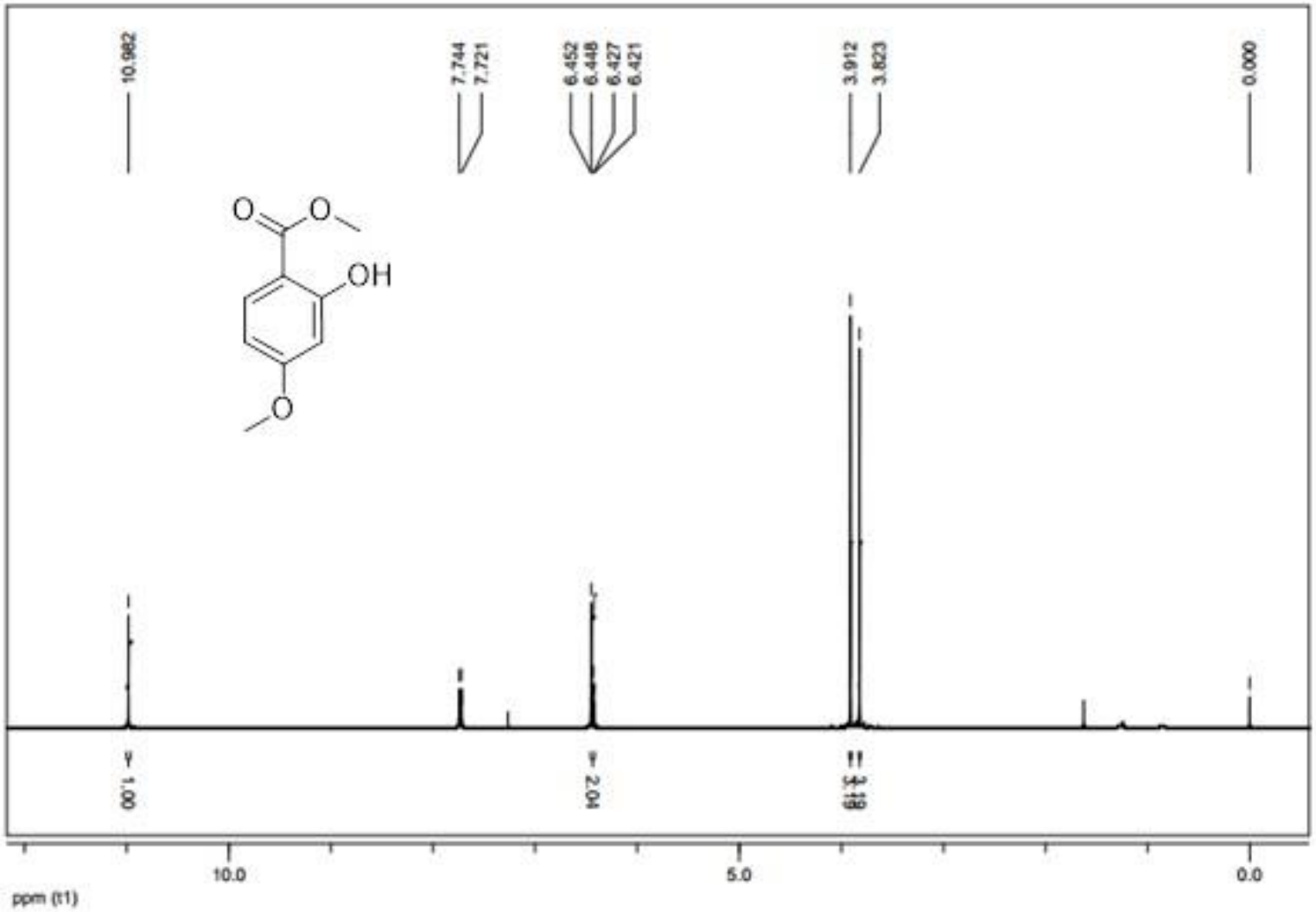
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): metilbenzenosulfonato de 7-metoxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]dioxin-5-il (**128**)



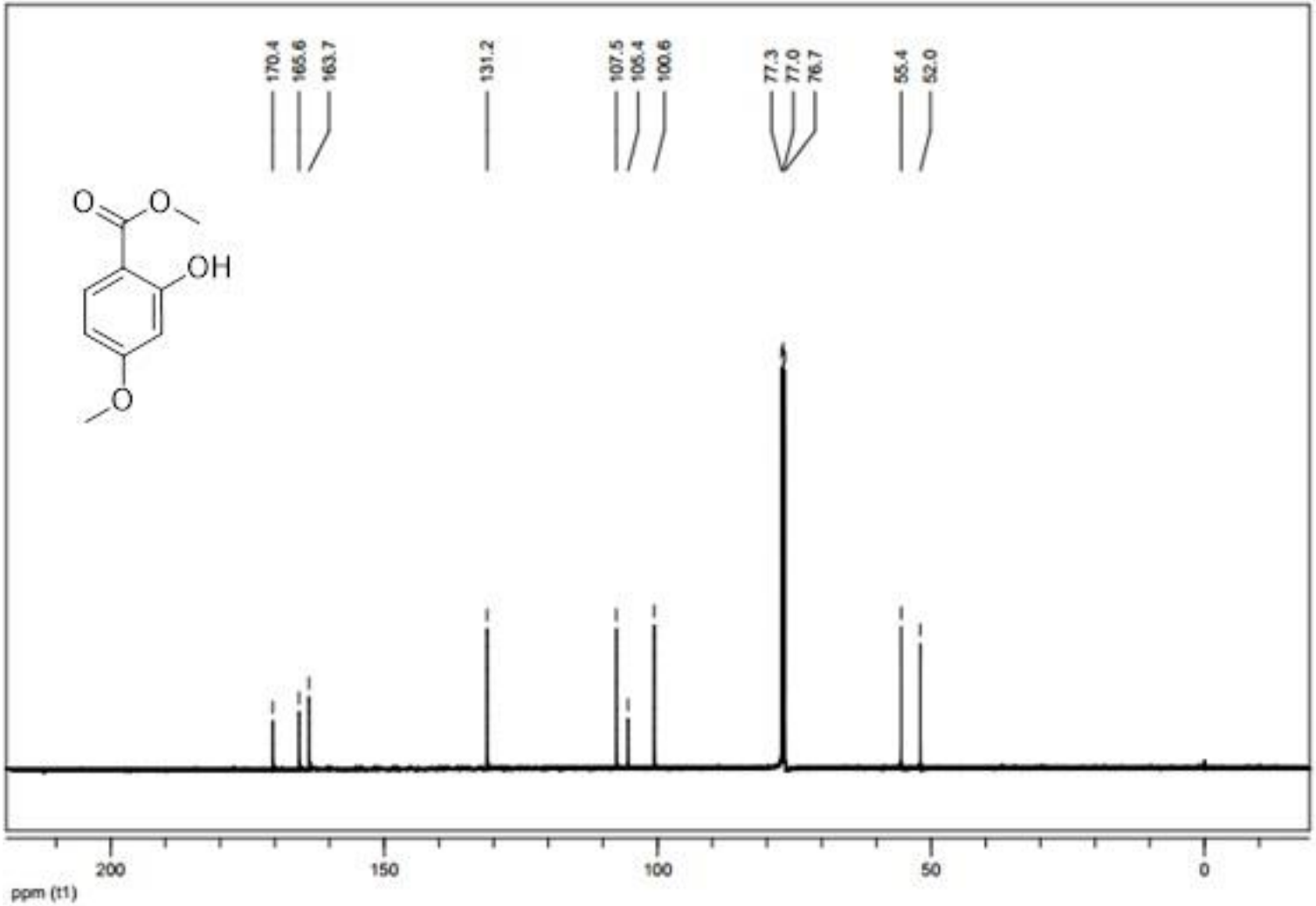
RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): metilbenzenosulfonato de 7-metoxi-2,2-dimetil-4H-benzo[d][1,3]dioxin-5-il (**128**)



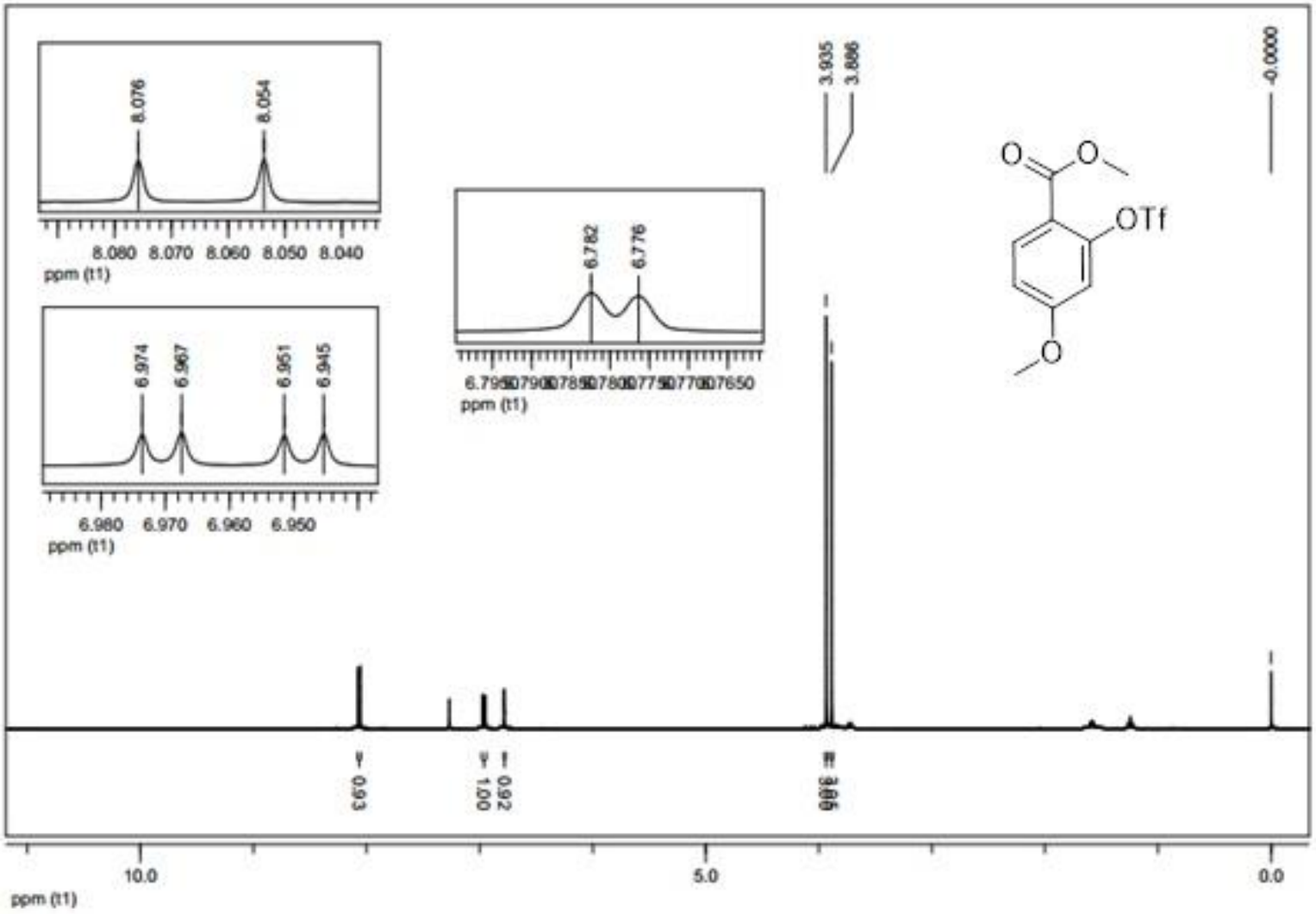
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): 2-hidroxi-4-metoxibenzoato de metila (**135**)



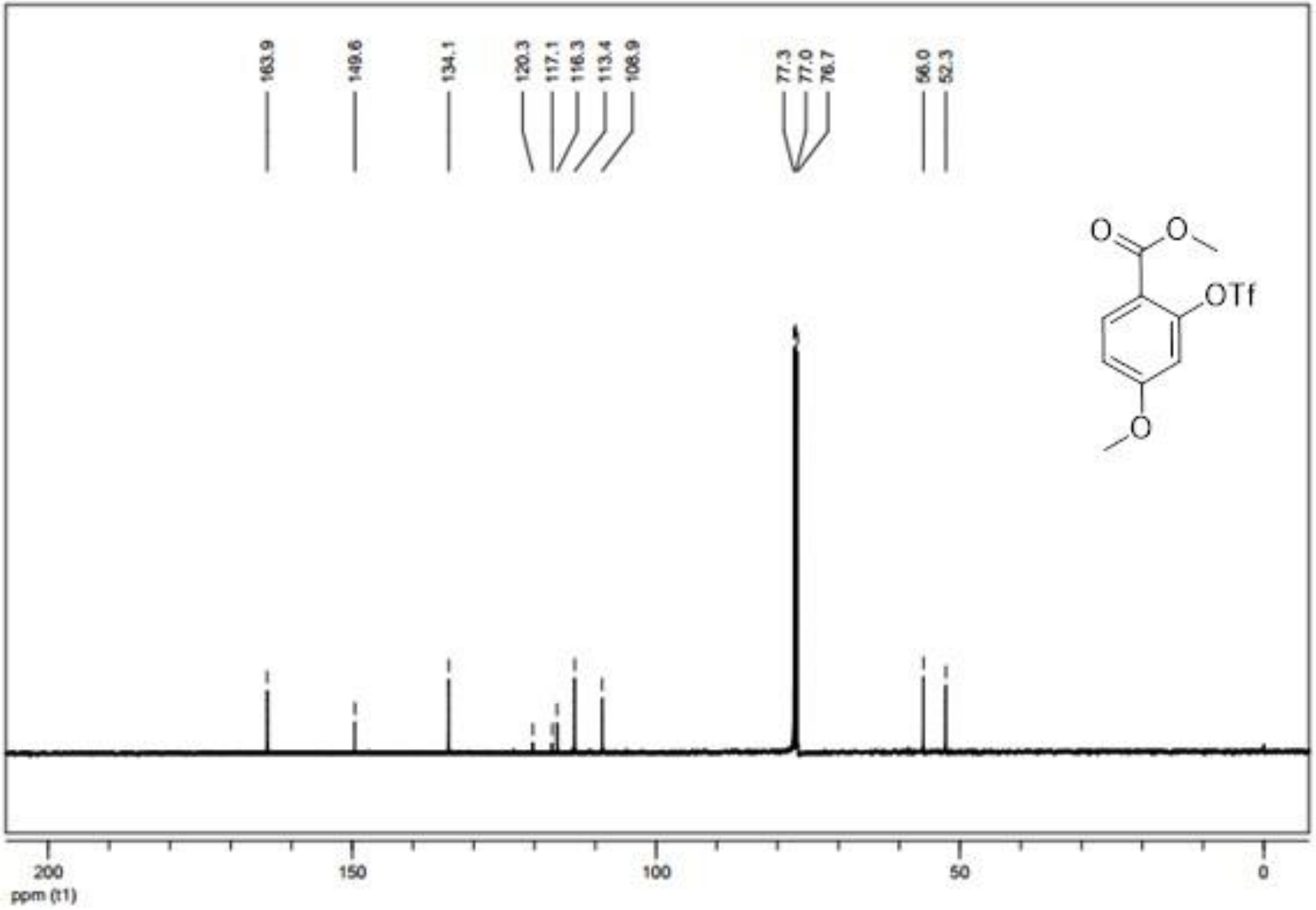
RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): 2-hidroxi-4-metoxibenzoato de metila (**135**)



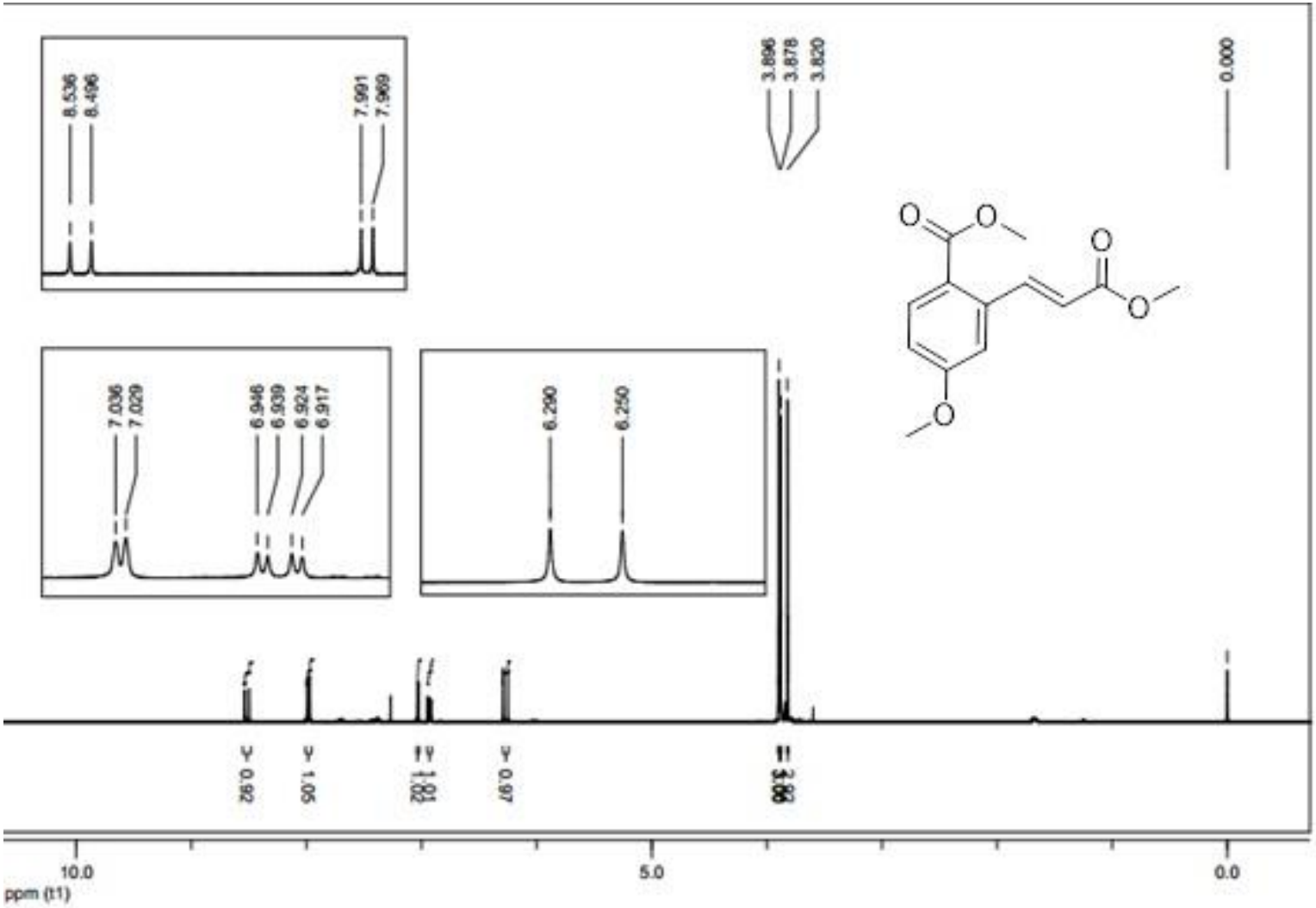
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): 4-metoxi-2-(((trifluormetil)sulfonil)oxi)benzoato de metila (**136**)



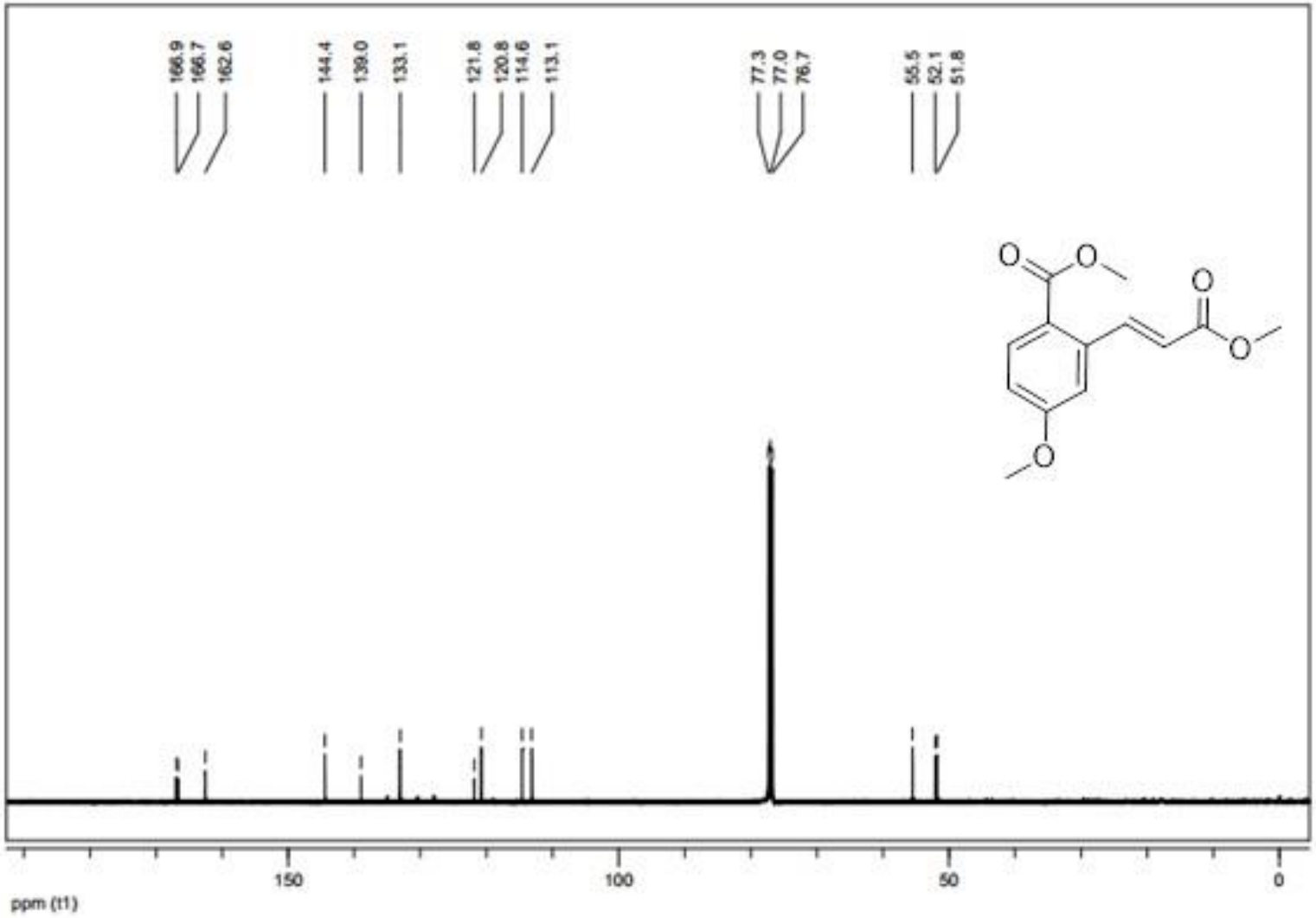
RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): 4-metoxi-2-(((trifluormetil)sulfonil)oxi)benzoato de metila (**136**)



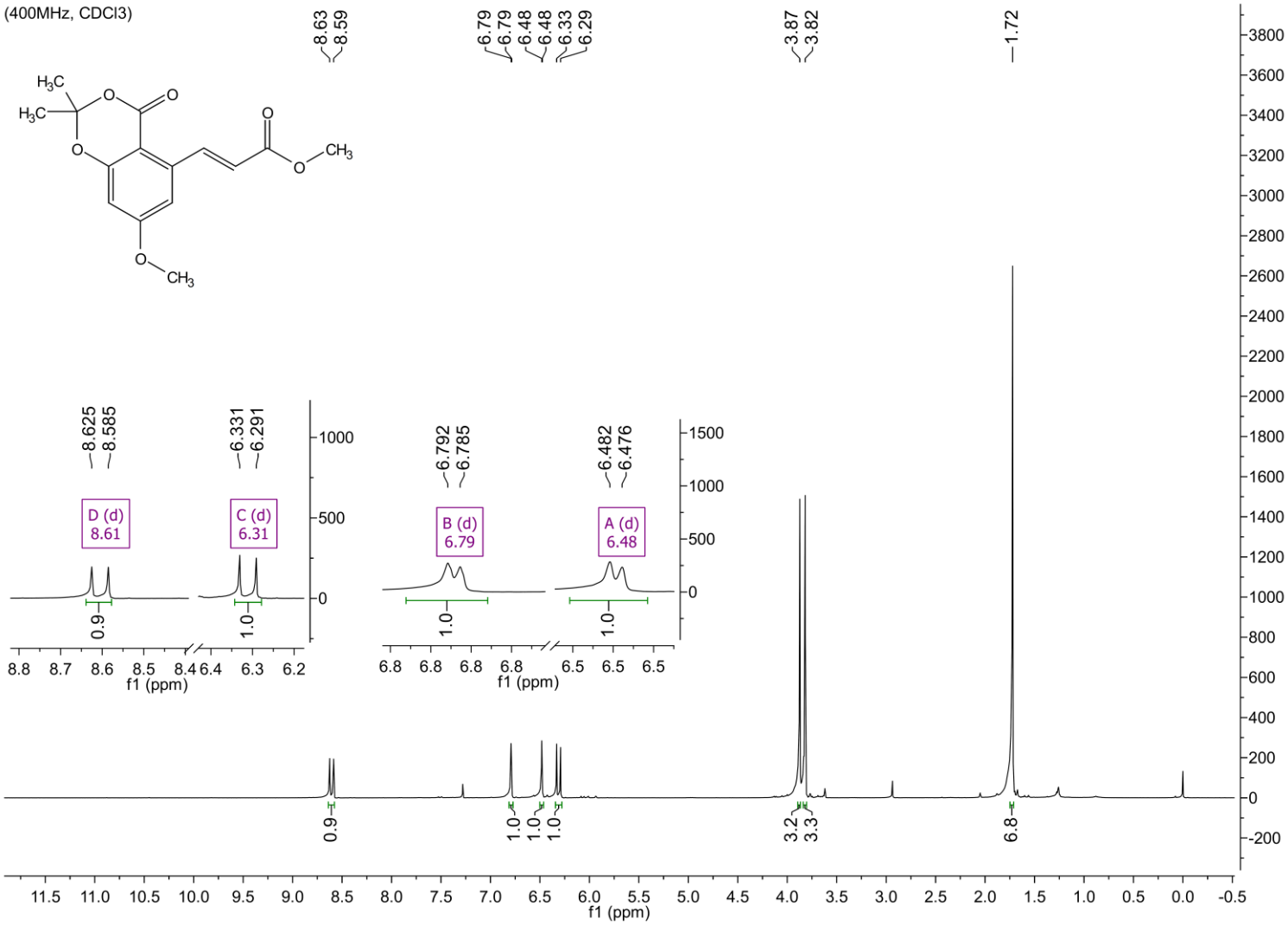
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): (E)-4-metoxi-2-(3-metoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)benzoato de metila (**137**)



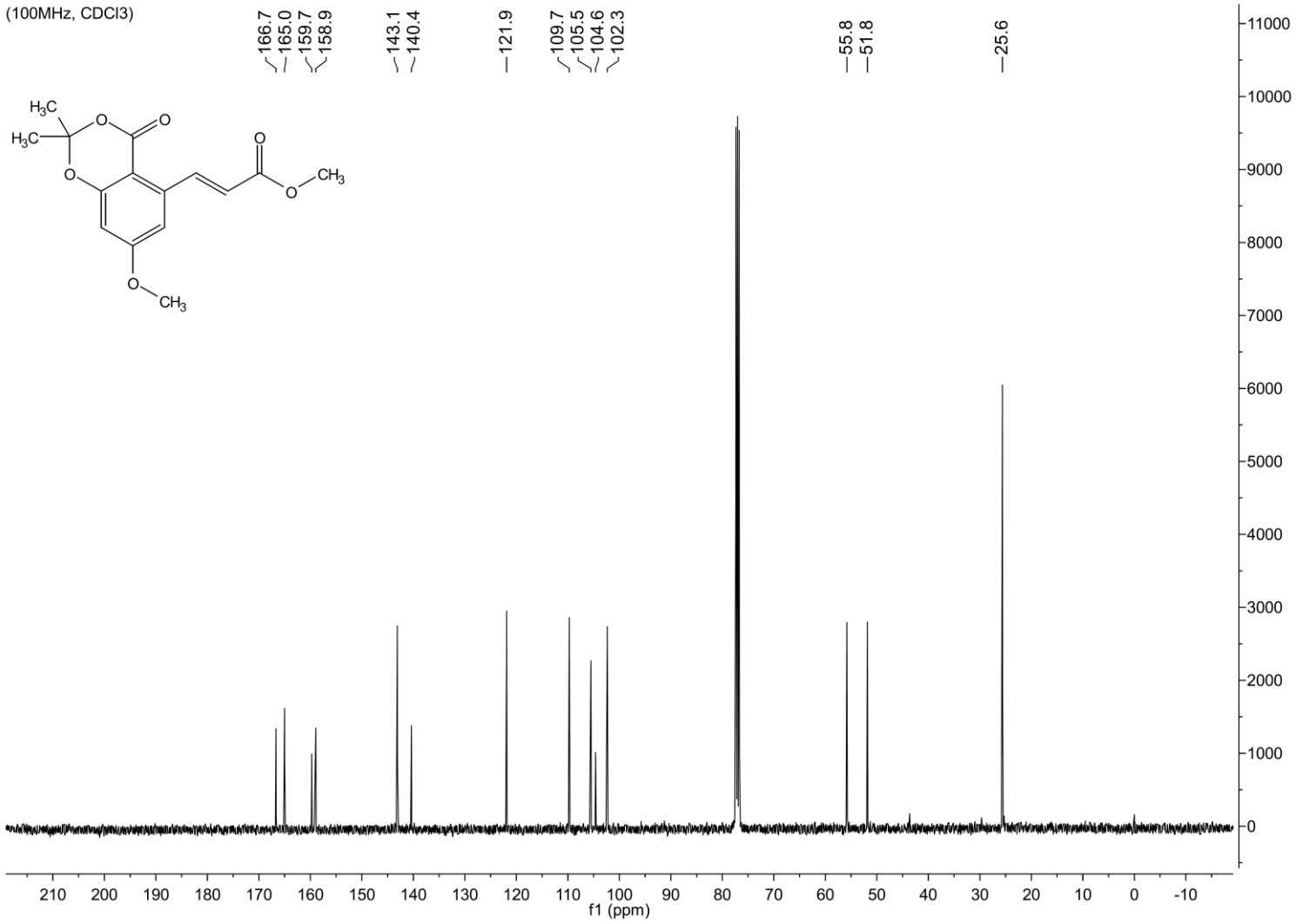
RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): (E)-4-metoxi-2-(3-metoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)benzoato de metila (**137**)



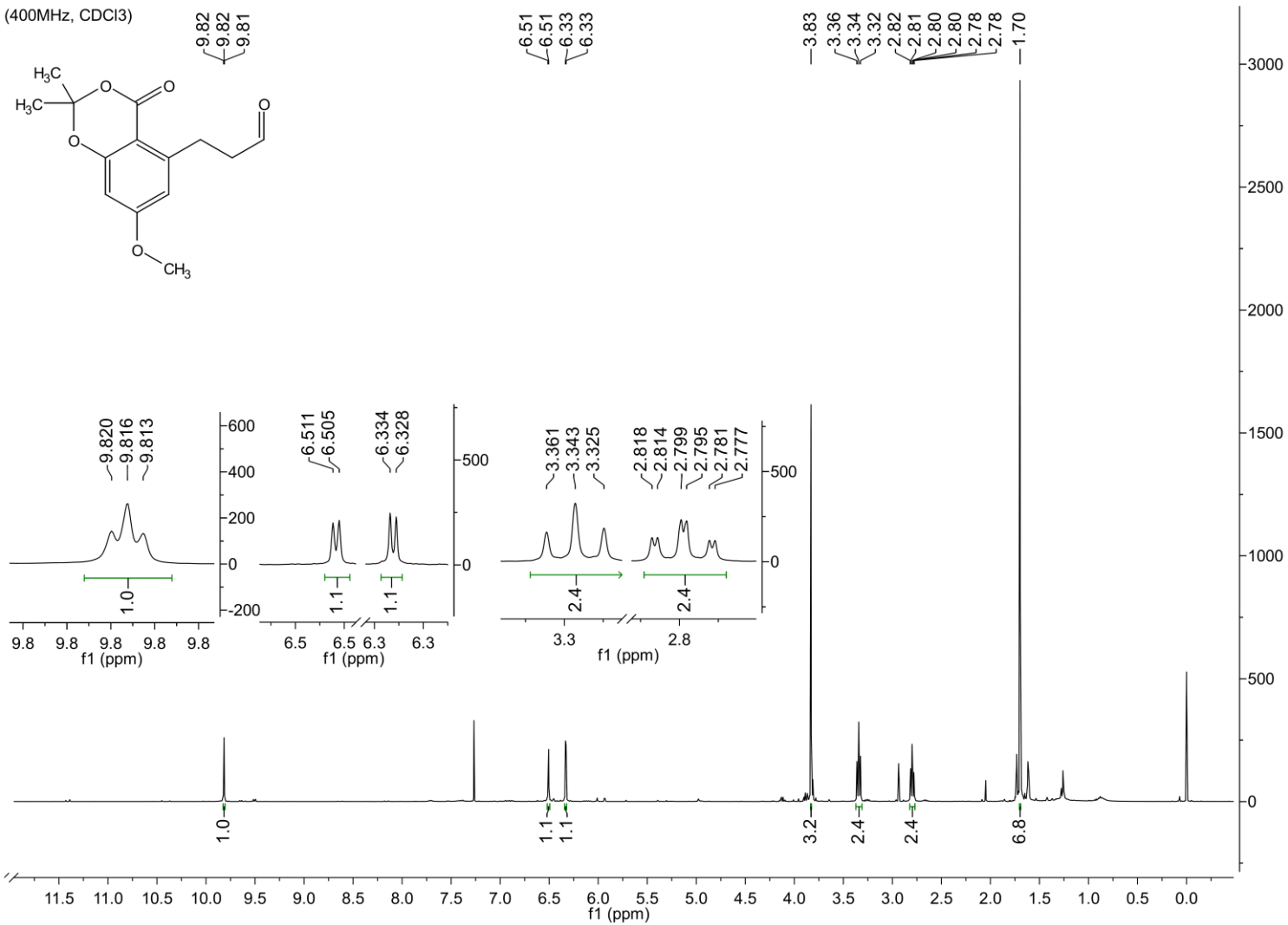
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): (E)-3-(7-metoxi-2,2-dimetil-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]dioxina-5-il)acrilato (**138**)



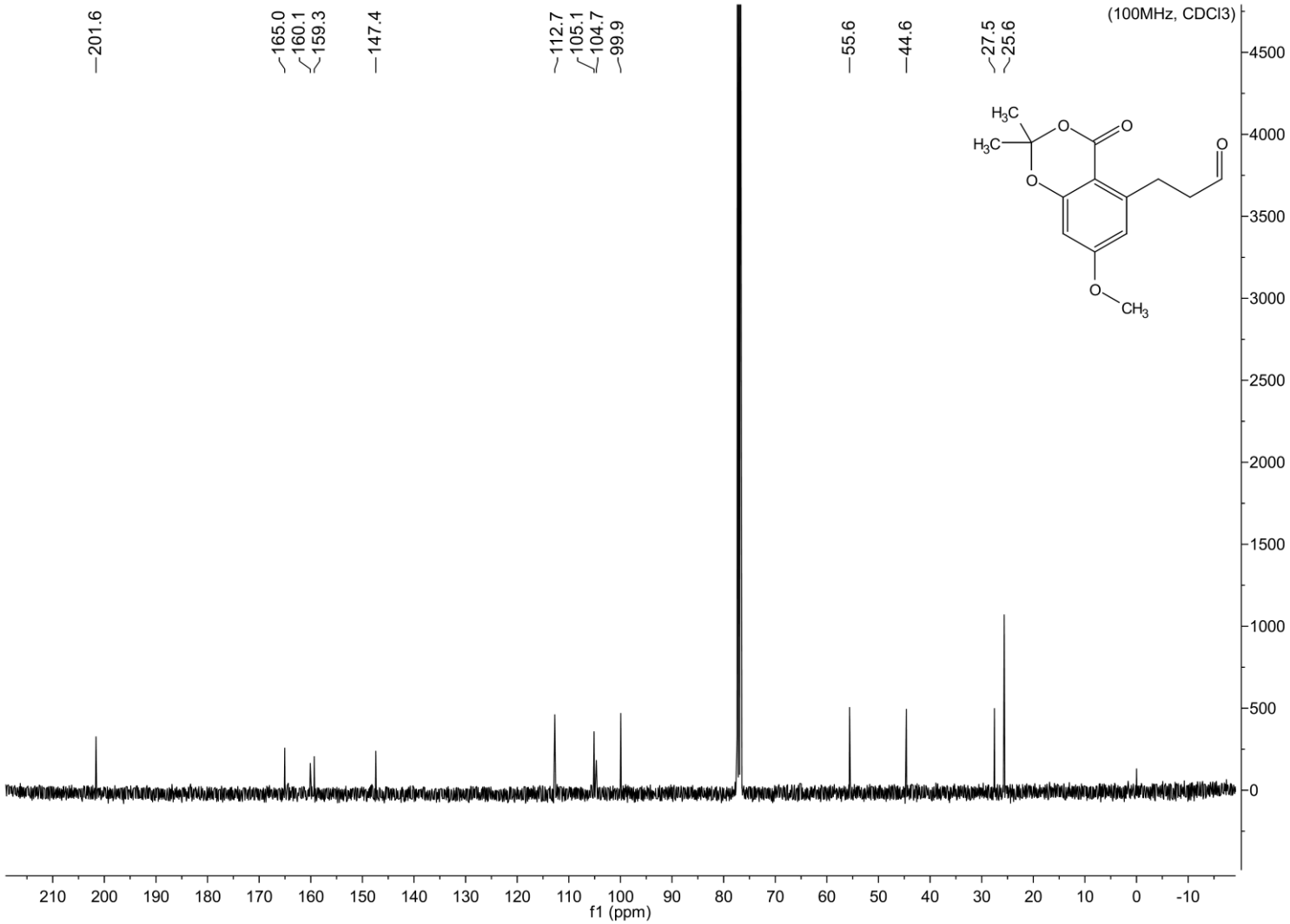
RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): (E)-3-(7-metoxi-2,2-dimetil-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]dioxina-5-il)acrilato (**138**)



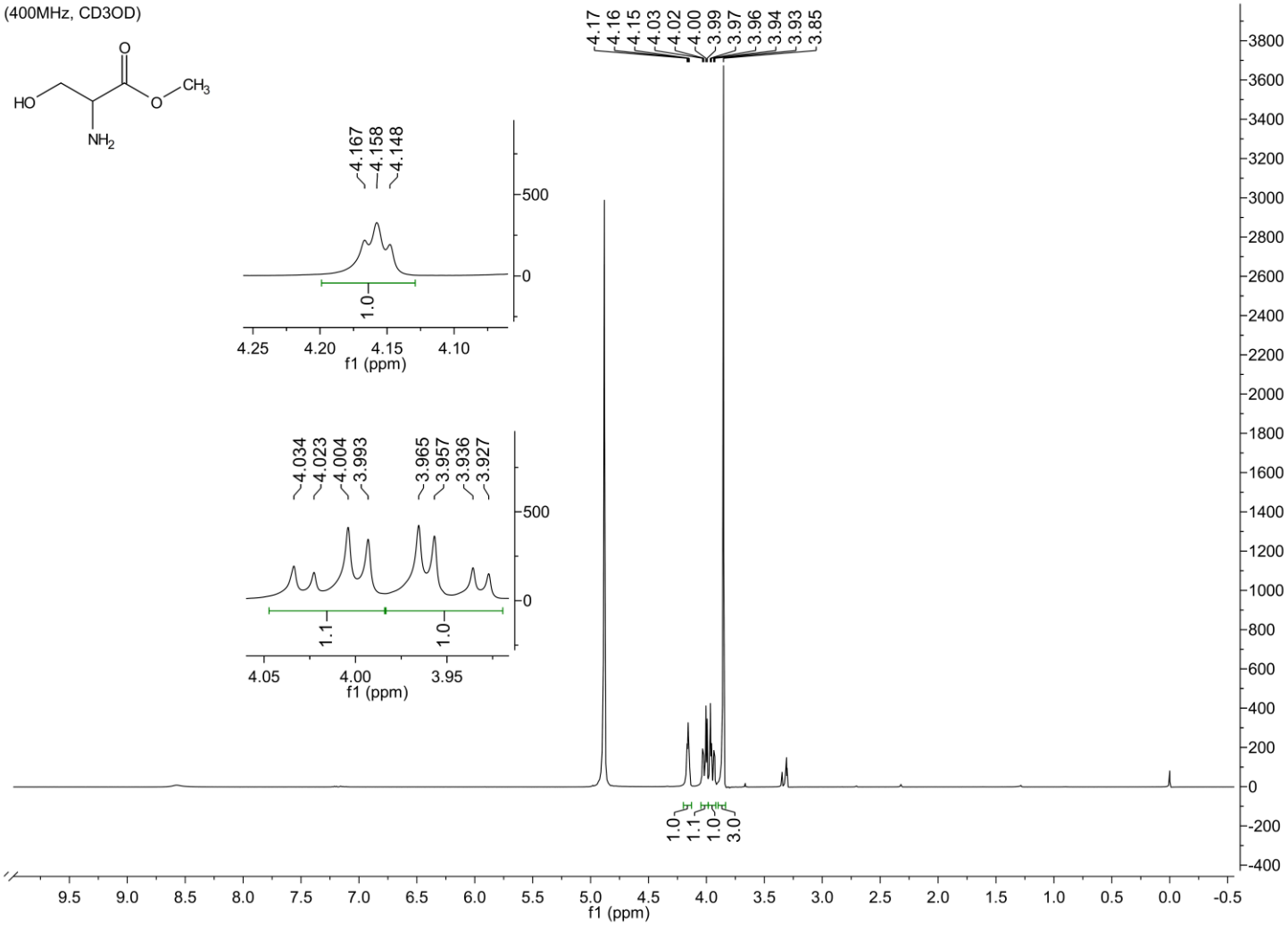
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): 3-(7-metoxi-2,2-dimetil-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]dioxina-5-il)propanal (**139**)



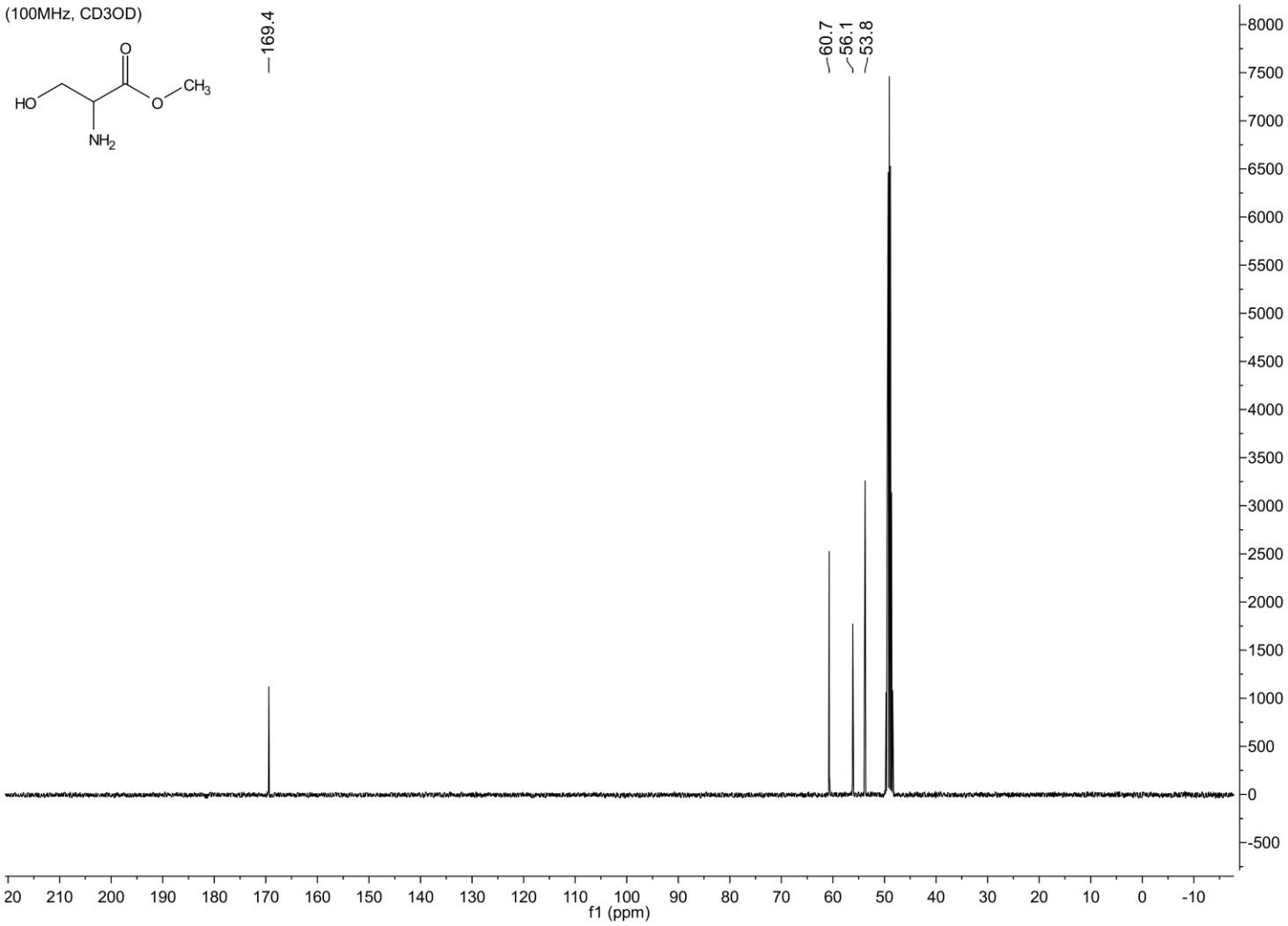
RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): 3-(7-metoxi-2,2-dimetil-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]dioxina-5-il)propanal (**139**)



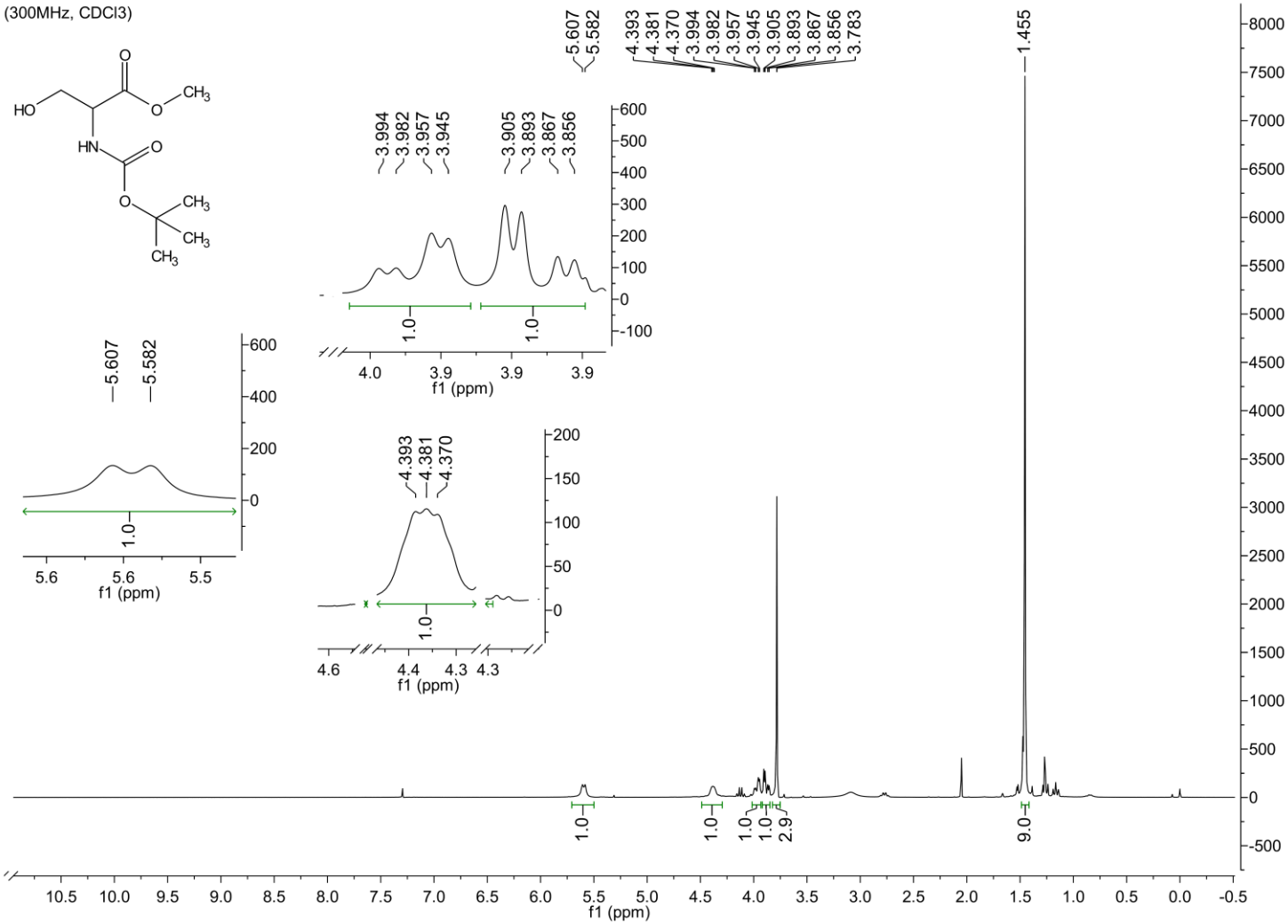
RMN de ^{1}H (400 MHz, CD_3OD): serinato de metila (**141**)



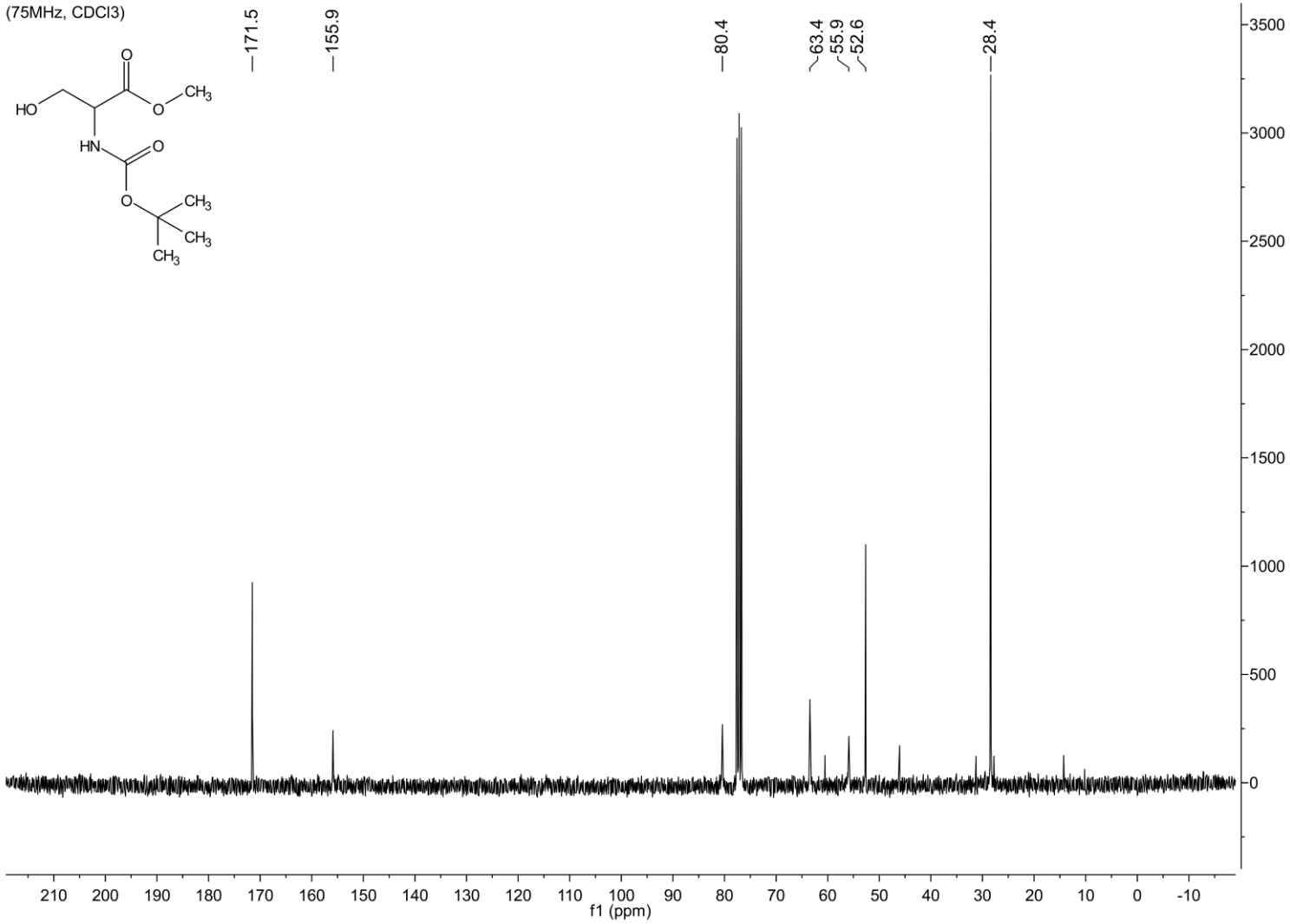
RMN de ^{13}C (400 MHz, CD_3OD): serinato de metila (**141**)



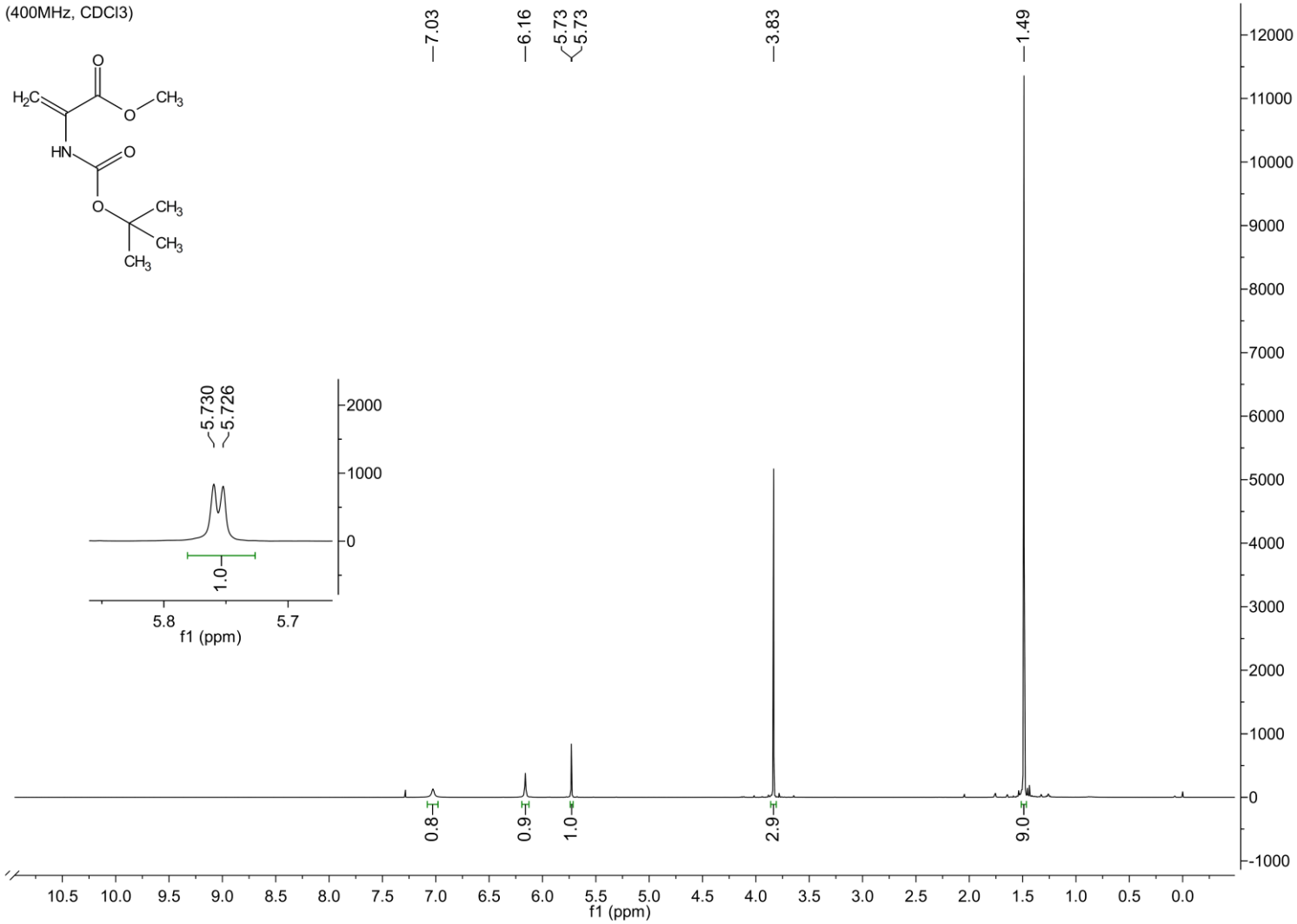
RMN de ^{1}H (100 MHz, $CDCl_3$): (terc-butoxicarbonil)serinato de metila (**142**)



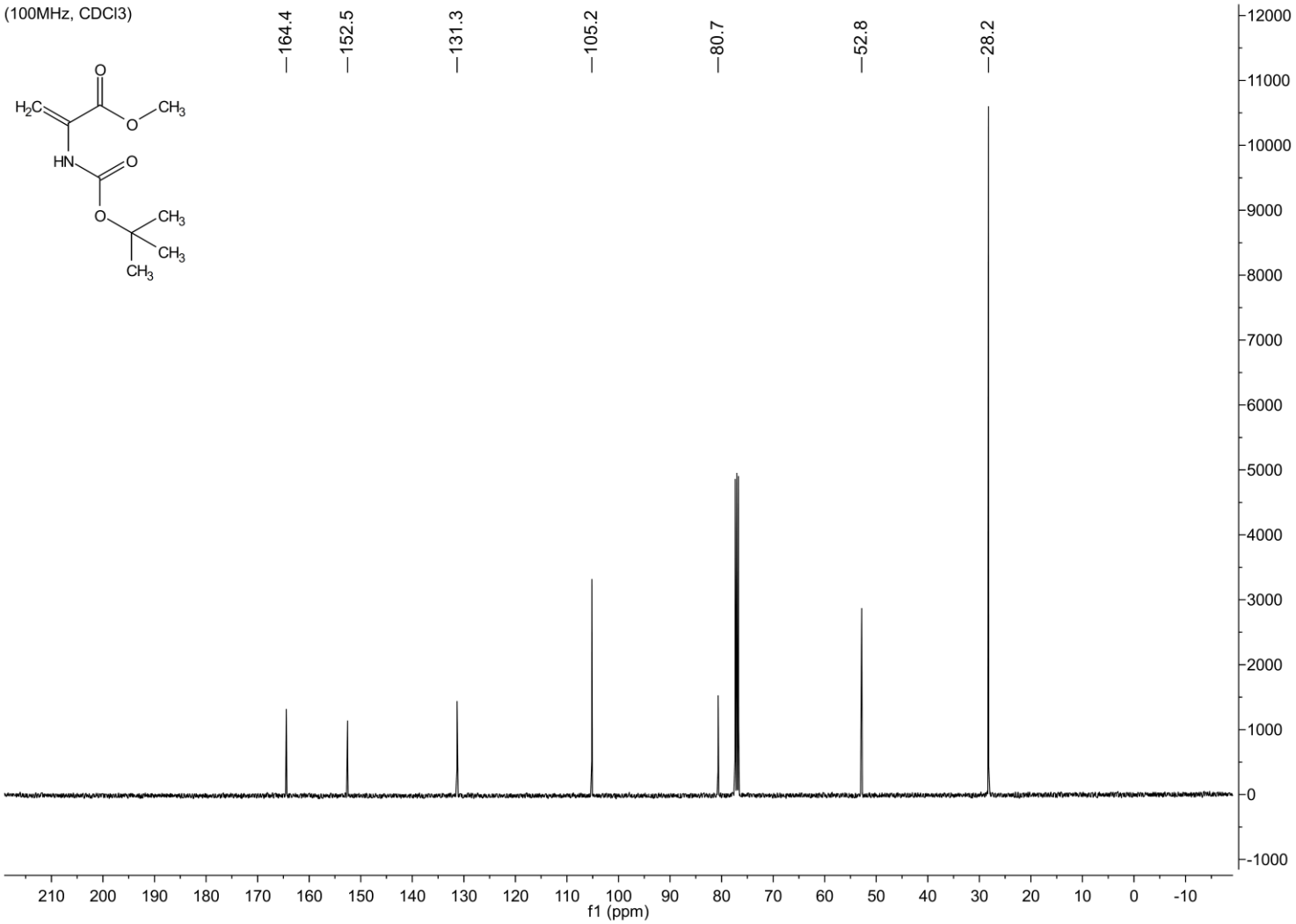
RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): (terc-butoxicarbonil)serinato de metila (**142**)



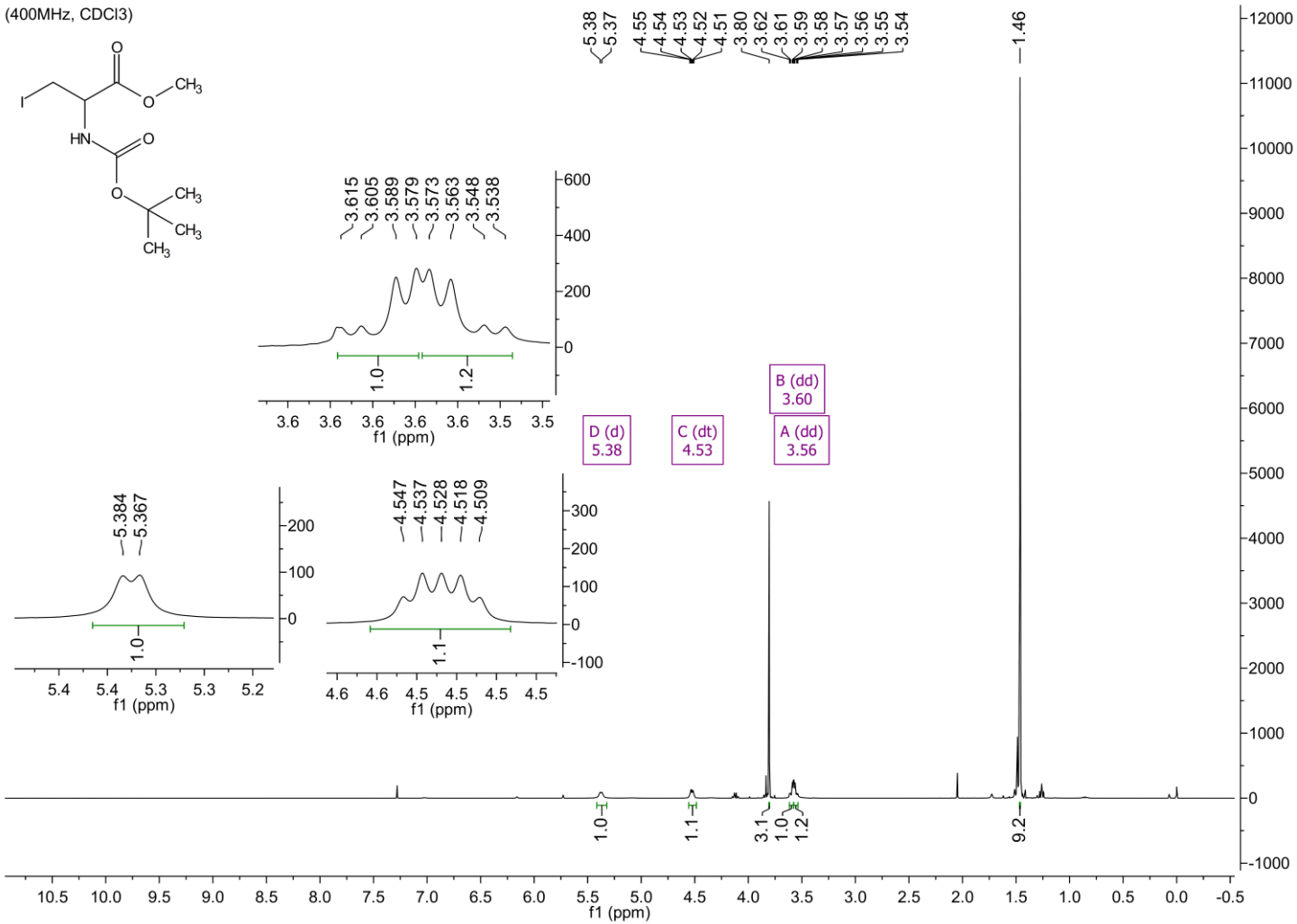
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): 2-((terc-butoxicarbonil)amino) acrilato de metila (**143**)



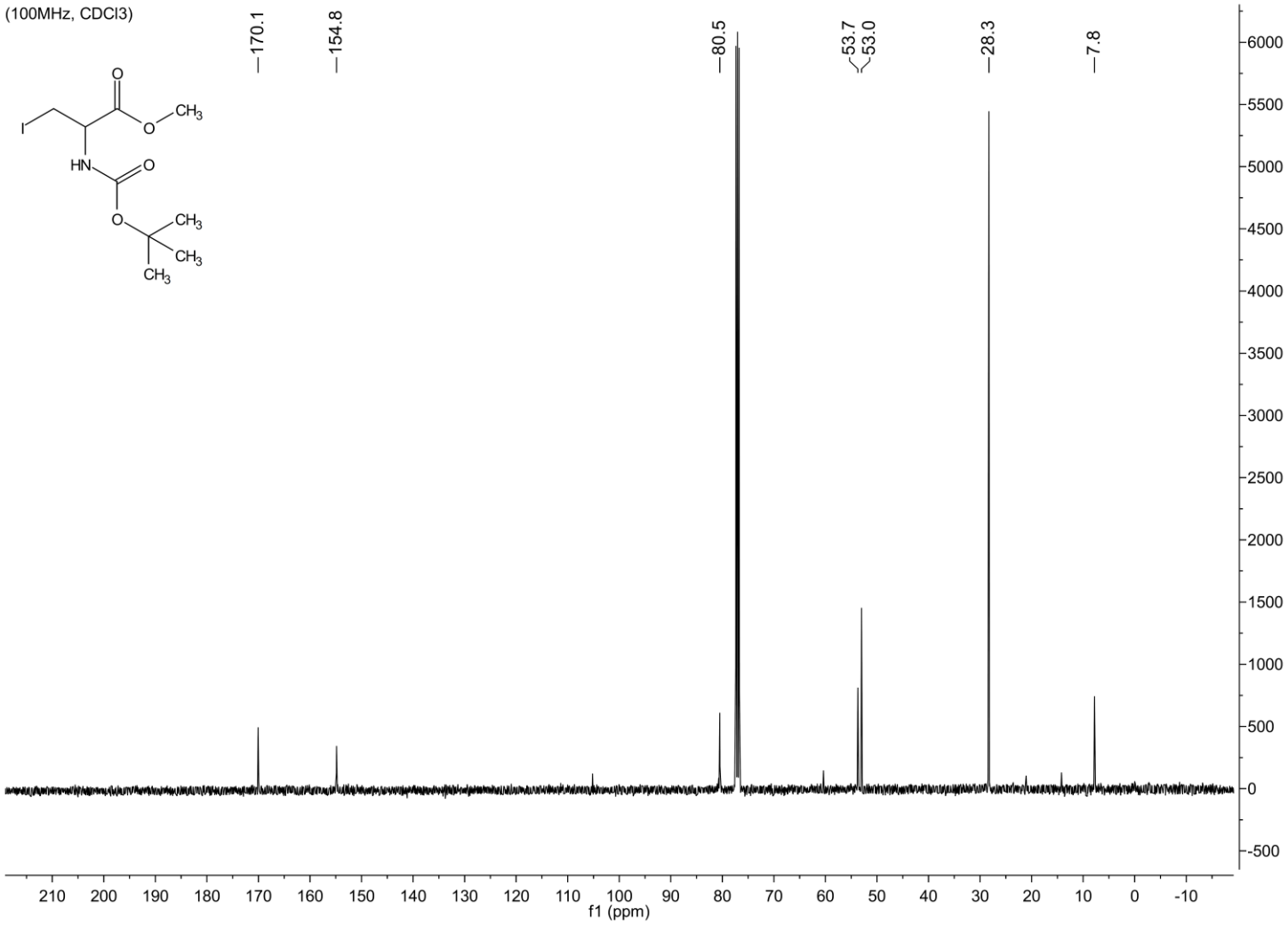
RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): 2-((terc-butoxicarbonil)amino) acrilato de metila (**143**)



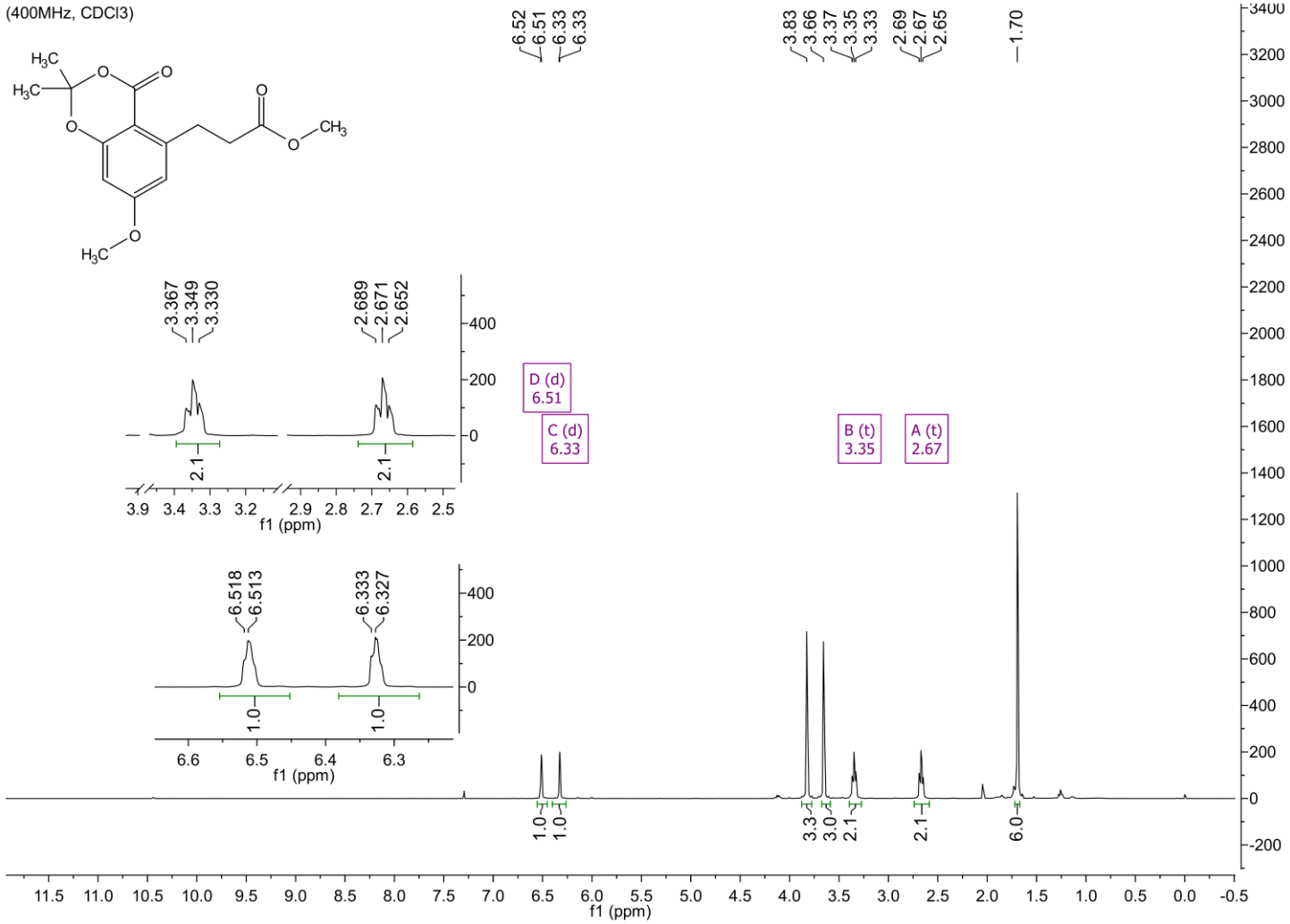
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): metil 2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-iodopropanoato (**144**)



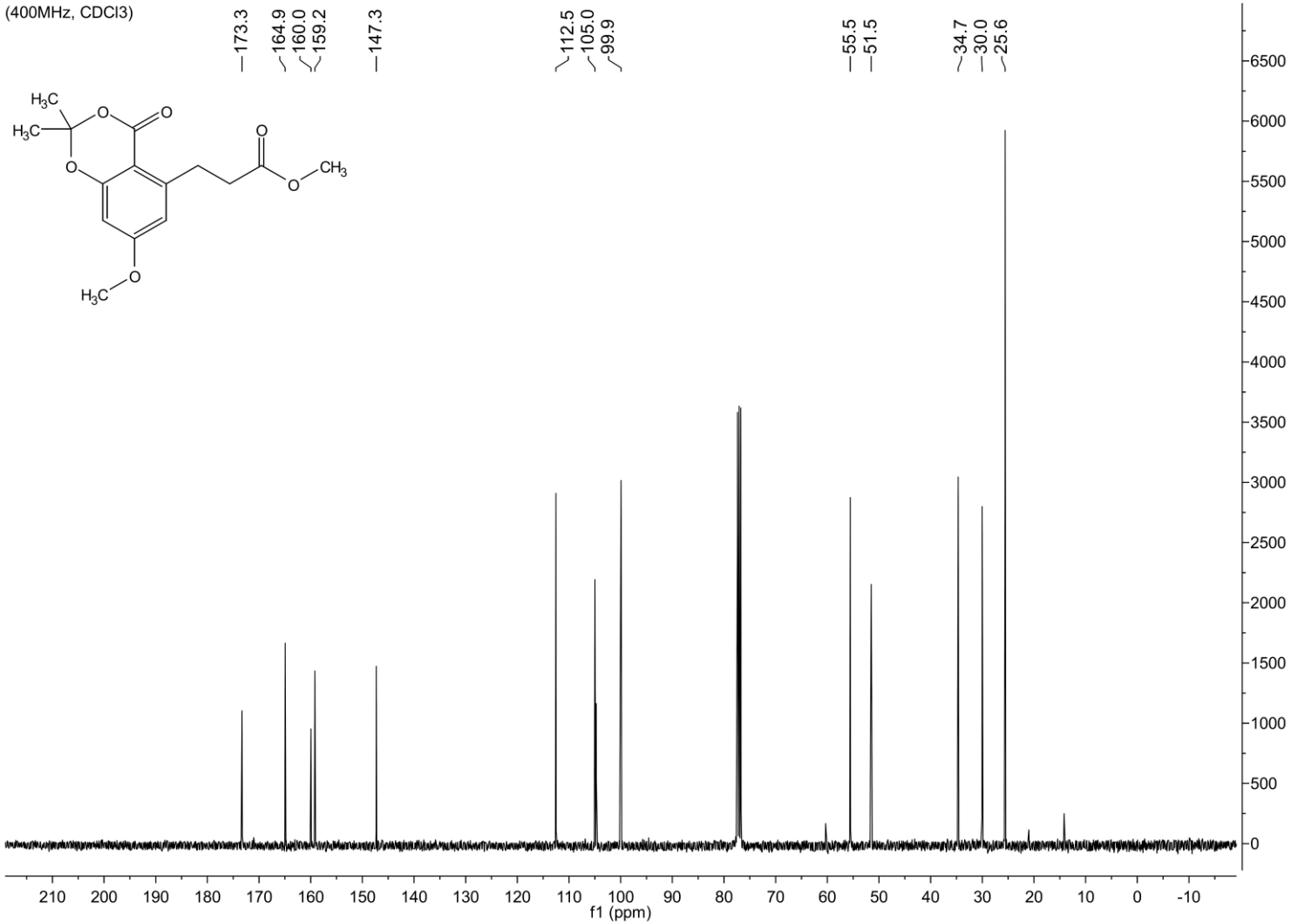
RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): metil 2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-iodopropanoato (**144**)



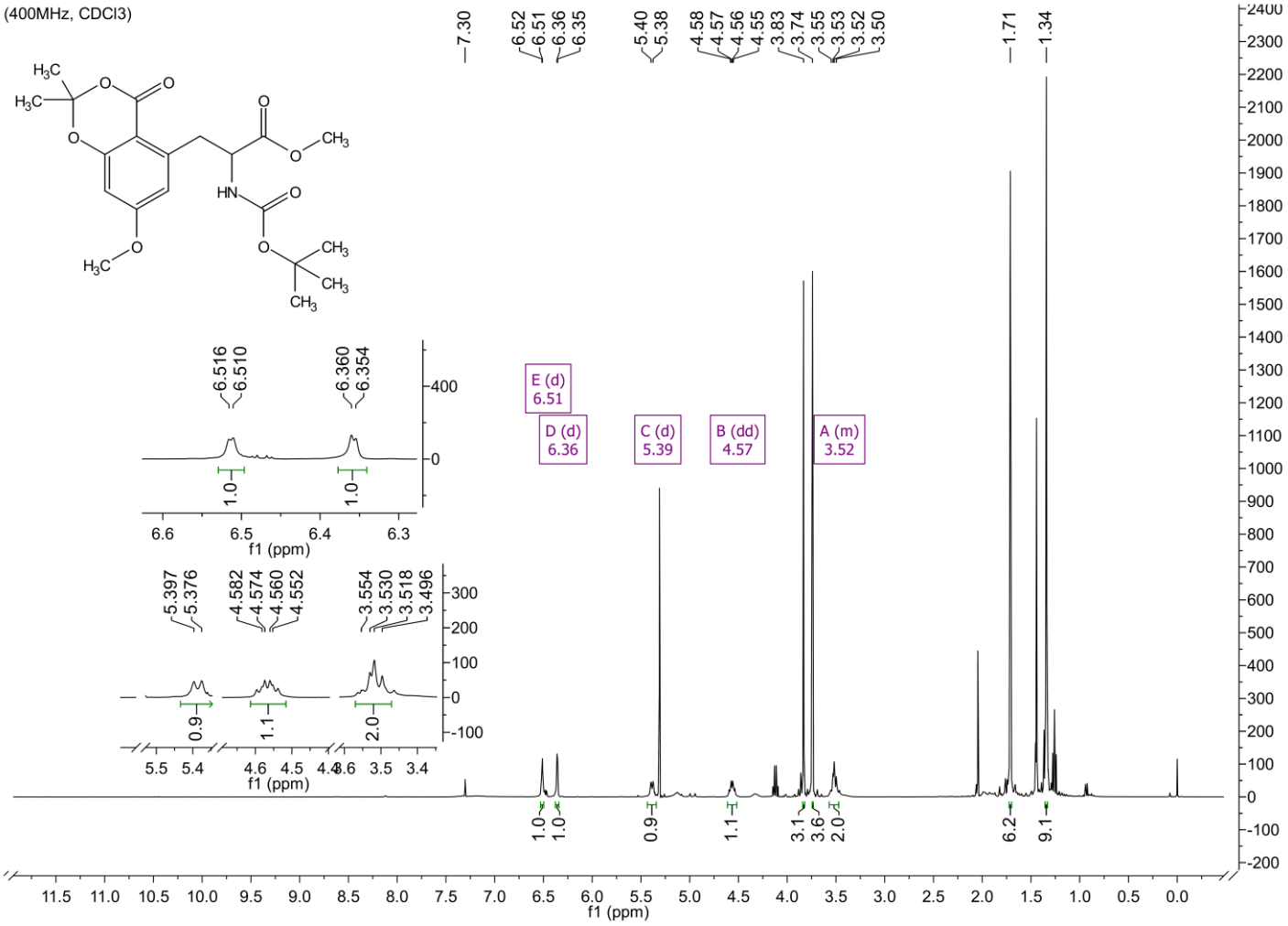
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): metil 3-(7-metoxi-2,2-dimetil-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]dioxin-5-il)propanoato (**145**)



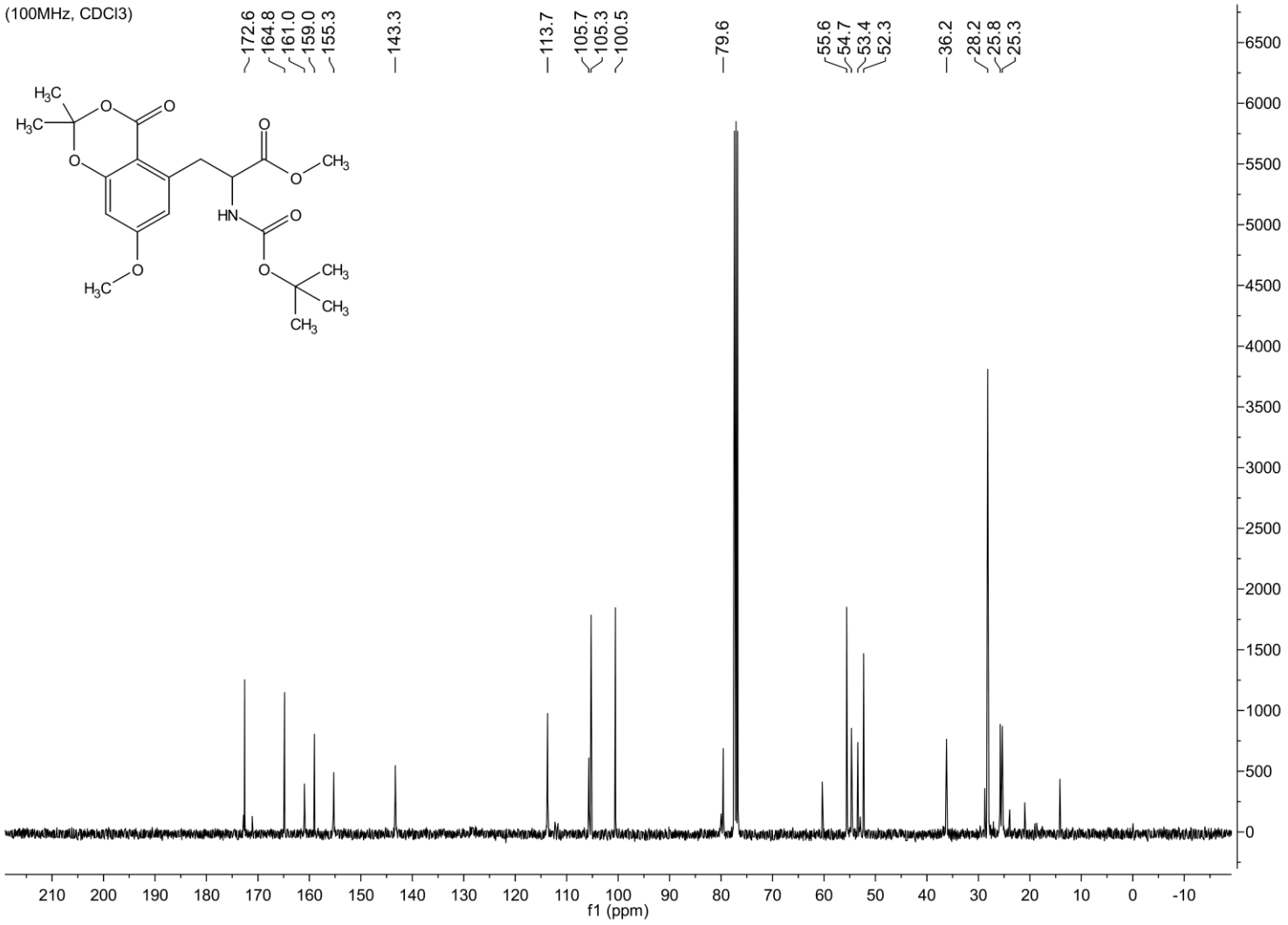
RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): metil 3-(7-metoxi-2,2-dimetil-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]dioxin-5-il)propanoato (**145**)



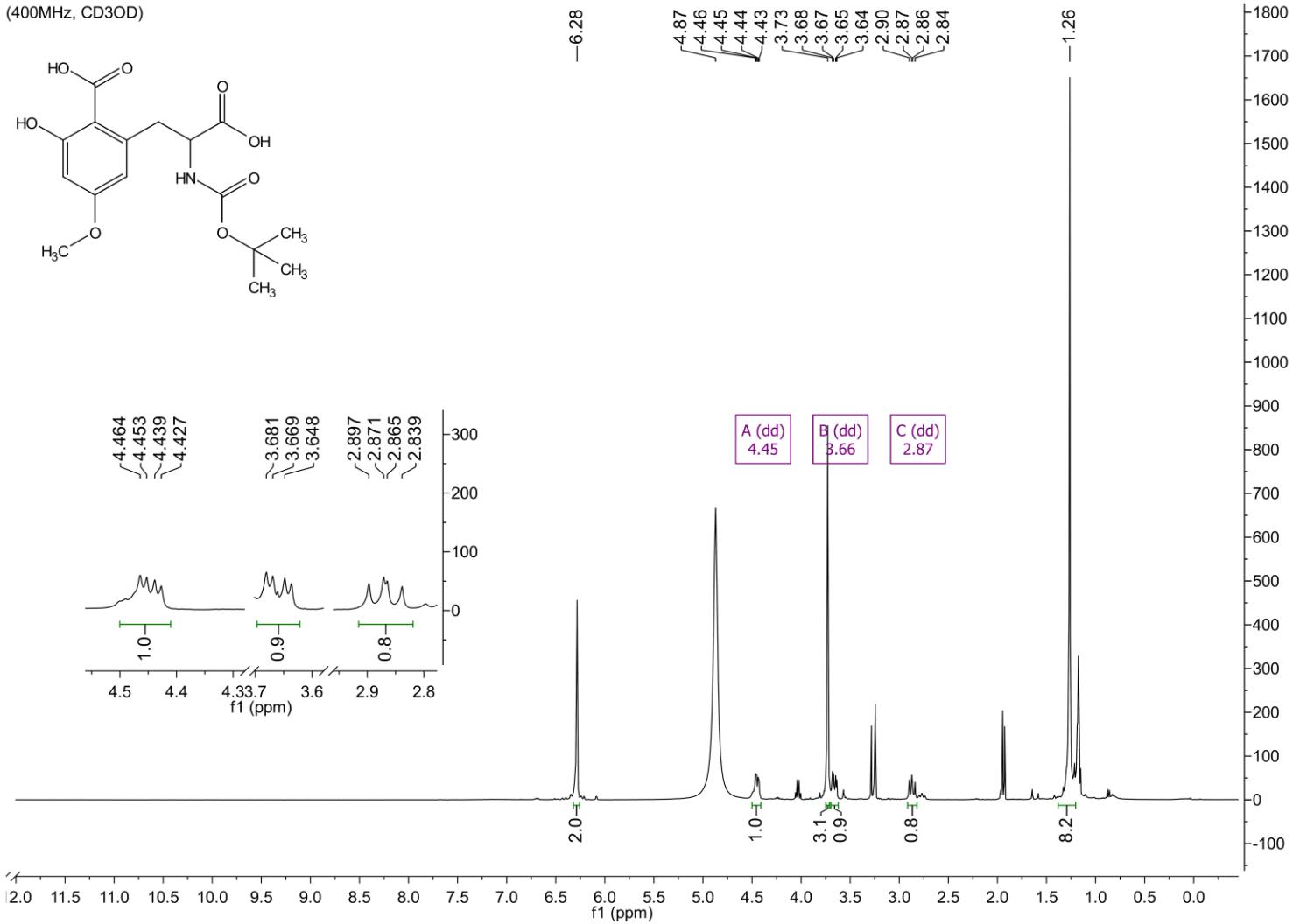
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): metil 2-((tert-butoxicarbonil)amino)-3-(7-metoxi-2,2-dimetil-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]dioxin-5-il)propanoato (**147**)



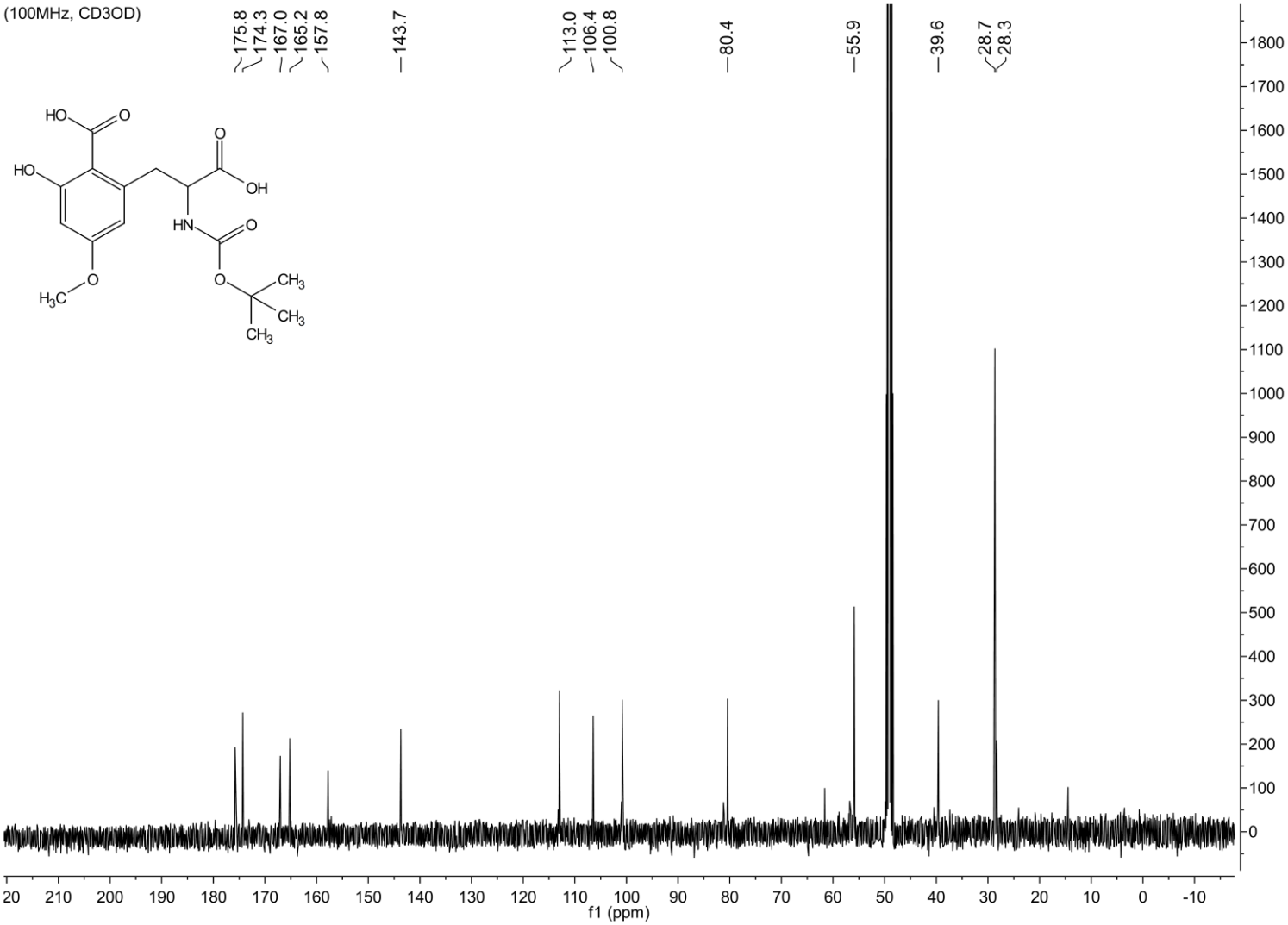
RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): metil 2-((tert-butoxicarbonil)amino)-3-(7-metoxi-2,2-dimetil-4-oxo-4H-benzo[d][1,3]dioxin-5-il)propanoato (**147**)



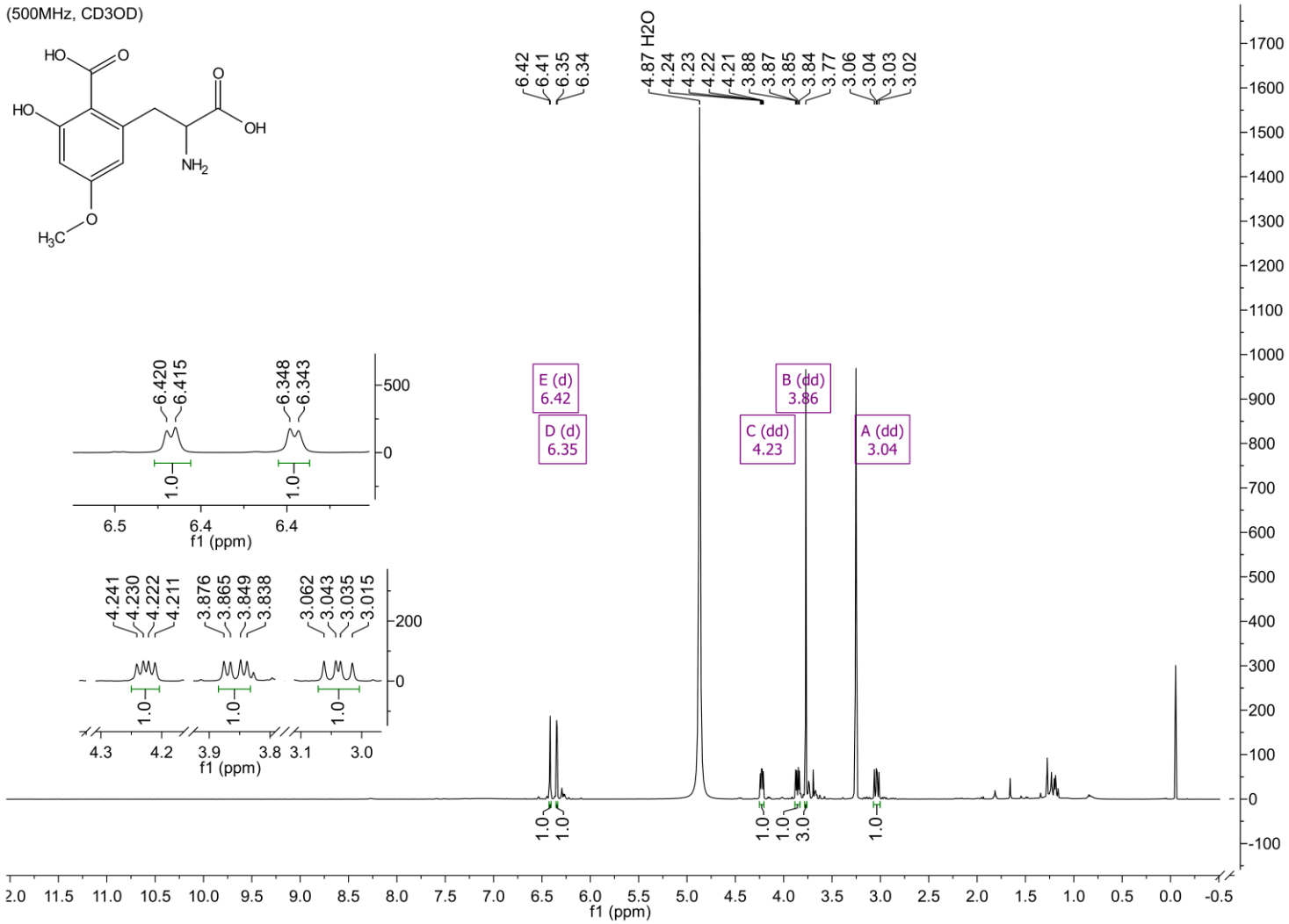
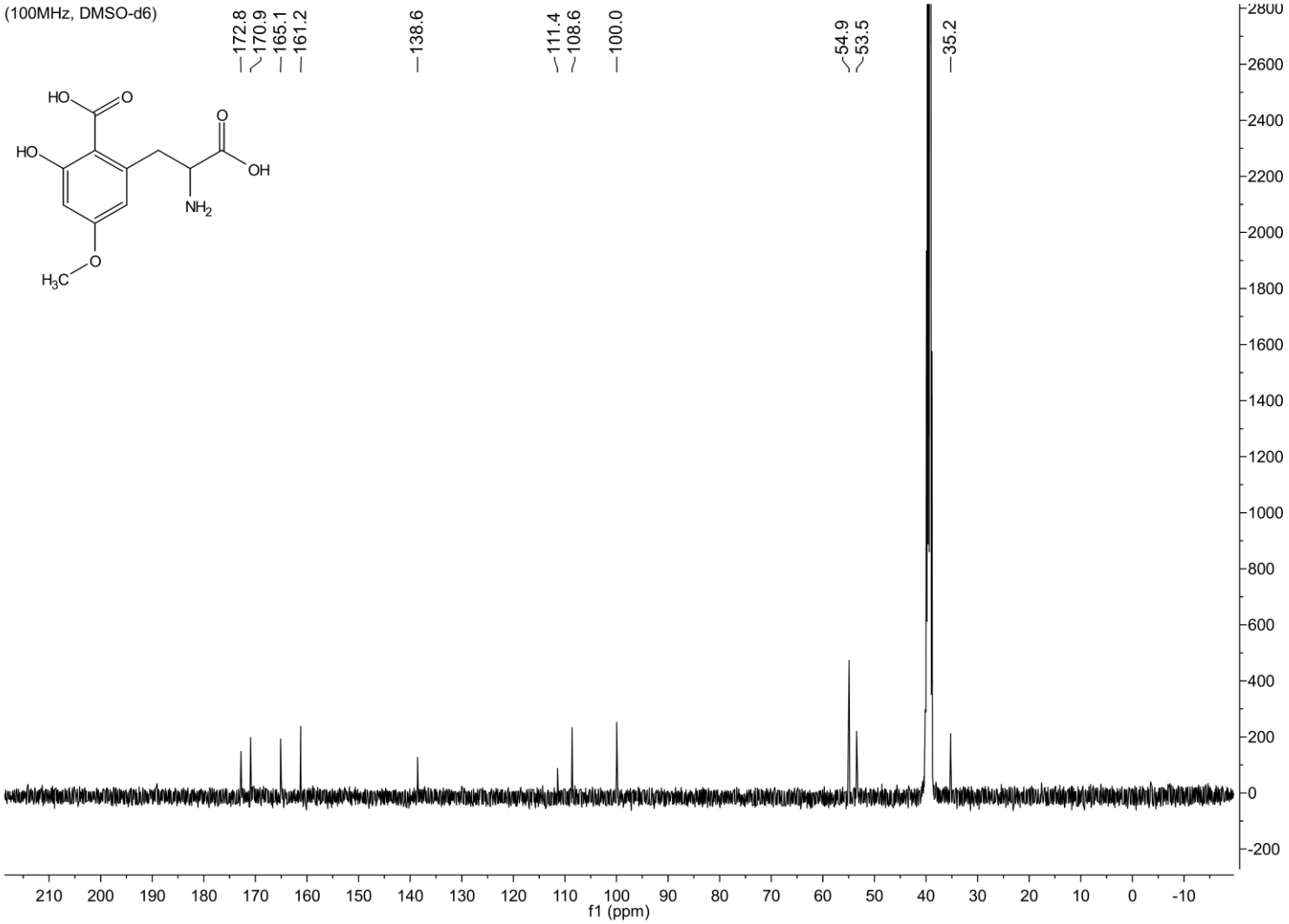
RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$): ácido 2-(2-((tert-butoxicarbonil)amino)-2-carboxietil)-6-hidroxi-4-metoxibenzóico (**148**)



RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): ácido 2-(2-((tert-butoxicarbonil)amino)-2-carboxietil)-6-hidroxi-4-metoxibenzóico (**148**)



RMN de ^{1}H (500 MHz, CD_3OD): ácido 2-(2-amino-2-carboxietil)-6-hidroxi-4-metoxibenzóico (**1**)



RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): ácido 2-(2-amino-2-carboxietil)-6-hidroxi-4-metoxibenzóico (**1**)