UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

ANDRÉ VARGAS FERREIRA

Síntese de aminoácidos não-proteinogênicos enriquecidos em ¹⁰B utilizados na Terapia de Captura de Nêutrons por Boro (BNCT)

> Piracicaba 2013

ANDRÉ VARGAS FERREIRA

Síntese de aminoácidos não-proteinogênicos enriquecidos em ¹⁰B utilizados na Terapia de Captura de Nêutrons por Boro (BNCT) Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

> Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção de título de mestre em Ciências

> Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente

> Orientador: Prof. Dr. José Albertino Bendassolli

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Ferreira, André Vargas

Síntese de aminoácidos não-proteinogênicos enriquecidos em ¹⁰B utilizados na Terapia de Captura de Nêutrons por Boro (BNCT) / André Vargas Ferreira; orientador José Albertino Bendassolli. - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2013.

136 f.: il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Cromatografia por troca iônica 2. Enriquecimento isotópico 3. Isotópos estáveis 4. Oncologia 5. Química orgânica 6. Reações orgânicas 7. Síntese orgânica I. Título

CDU 547.631.1.05 : 621.039.3

Enter to learn, leave to serve

Dedico essa dissertação a meus pais Washington Luiz Ferreira e Thaís Christina Vargas Ferreira pelo amor e dedicação. Vocês são meus exemplos de dignidade e honestidade

Dedico essa dissertação a minha irmã Débora Vargas Ferreira, a meus irmãos Eduardo Vargas Ferreira e Filipe Vargas Ferreira, a meu cunhado Marcos Paulo do Couto Costa e a princesa que veio nos iluminar: minha sobrinha Olívia

AGRADECIMENTOS

À Deus;

À minha família;

Ao Professor José Albertino Bendassolli pela confiança em meu trabalho e por transmitir seus conhecimentos de uma forma tão generosa.

Ao Professor Fernando Coelho, a quem sou enormemente grato pela oportunidade de aprendizado. Jamais esquecerei o quanto sua generosidade e sabedoria me tornaram uma pessoa melhor. Obrigado!

À minha namorada Suelen pelos momentos juntos que passamos e outros que ainda virão;

Aos colegas de laboratório da UNICAMP: Kristerson (um abraço especial), Paioti, Luiz Gustavo, João Paulo, José Thiago, Bruno Teodoro, Manoel, Edson, Hamid, Lucimara, Marília, Ju, Naty, Rodrigo, Bruno Vilachã, Guidoti, Érica, Capretz, Tiago, Daniara, Lucas, Pablito, Edu Tanoe, André (gago), Alanzinho, Rose, Danilo, Gabriel, Manu, Maurício, Nico e Duca.

Aos colegas do CENA: Gabriel e Sheila (Química Analítica), Bento, Clelber, Pingin, Hugo, Juliana, Miguel, Glauco, Magda, Marília (Biblioteca), Henrique, Alexssandra, Claudinéia, Josiane, Alexandre, Murilo, Gra, Dieguinho, Oriel, Michelli Massaroli Carol, Felipe, João, Renatão. Um agradecimento especial ao amigo Carlão.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) e ao Laboratório de Síntese de Produtos Naturais e Fármacos (UNICAMP), assim como a Comissão Nacional de Energia Nuclear pelo financiamento.

RESUMO

FERREIRA, A. V. Síntese de aminoácidos não proteinogênicos enriquecidos em ¹⁰B utilizados na Terapia de Captura de Nêutrons por Boro (BNCT). 2013. 136 f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

O Glioblastoma Multiforme (GMB), tipo de câncer cerebral mais comum e agressivo, apesar dos recentes avanços na pesquisa em neurociência, é muitas vezes incurável e com prognóstico obscuro. Diante da resistência e da inespecificidade dos tratamentos frente a esses tumores, o maior desafio atualmente está no desenvolvimento de estratégias moleculares mais específicas às células cancerígenas e menos agressivas aos pacientes. A terapia de captura de nêutrons por boro, comumente conhecida como BNCT (do inglês Boron Neutron Capture Therapy) fornece um caminho de destruição seletiva das células tumorais poupando as normais, sendo esta terapia baseada na reação de fissão nuclear entre o ¹⁰B. um dos isótopos estáveis de boro, e nêutrons de baixa energia. Destaca-se a utilização de isótopos estáveis na área biomédica pelo fato destes serem inócuos ao organismo dos pacientes e não possuírem limite de dosagem. Desta forma, o objetivo do presente trabalho consiste na síntese do principal fármaco utilizado na BNCT, o L-4-borofenilalanina enriquecido em ¹⁰B. Para isso, utilizou-se da reação de Morita-Bavlis-Hillman (MBH) cuja definição geral é uma condensação entre carbonos eletrofílicos sp² e a posição α de uma olefina com grupos retiradores de elétrons ativada por uma amina terciária ou uma fosfina, gerando uma nova ligação σ C-C. Essa reação apresenta algumas vantagens que evidenciam as reações de MBH como uma metodologia sintética eficiente: são regio e quimioseletivas; possuem uma elevada economia de átomos, necessitam condições brandas de trabalho fornecendo. Estabeleceu-se metodologia para a síntese do 4-bromofenilalanina, precursor do fármaco L-4-borofenilalanina por meio de duas abordagens sintéticas inéditas e distintas. A ampliação do escopo dessa sequência de reações para sintetizar outros aminoácidos não-proteinogênicos demonstra a robustez da nova rota sintética abrindo a possibilidade de síntese de outros aminoácidos enriquecidos em isótopos estáveis de elementos leves com aplicação biomédica. A primeira abordagem sintética compreendeu 6 etapas e foi possível obter um rendimento global de 24%. A segunda abordagem sintética foi realizada em 4 etapas possibilitando obter o mesmo aminoácido com rendimento global de 46%.

Palavras-chave: Morita-Baylis-Hillman, ¹⁰B, Isótopos Estáveis

ABSTRACT

FERREIRA, A. V. Synthesis of non-proteinogenic amino acids enriched in ¹⁰B used in Boron Neutron Capture Therapy (BNCT). 2013. 136 f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

Glioblastoma Multiforme (GMB), a most common and aggressive type of brain cancer, in spite of recent advances in neuroscience research, is often incurable and the prognosis is obscure. In front of the resistance and specificity of the treatments against these tumors, the biggest challenge nowadays is to develop molecular strategies more specific to tumor cells and less aggressive for the patient. Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) provides a path of selective destruction of tumor cells sparing the normal ones, which this therapy based on nuclear fission reaction between ¹⁰B, one of the stable isotopes of boron and low-energy neutrons. Emphasizes the use of stable isotopes in the biomedical area because these are innocuous to the body of the patients and do not have limit dosage. Thus, the aim of this master is the synthesis of the main drug used in BNCT, the L-4boronophenylalanine enriched in ¹⁰B. For this, we used the Morita-Baylis-Hillman (MBH) which definition is a condensation between sp² eletrophilic carbon and the position α of an olefin activated by tertiary amine or phosphine, generating a new σ C-C bond. This reaction has some advantages that evidence the reactions of MBH as an efficient synthetic methodology: are regio and guimioselective, have high atom economy, require mild conditions providing polifunctionalized molecules that through small changes in chemical structure can generate a series of synthetic intermediates. pharmaceuticals, etc. It was established methodology for the synthesis of 4bromophenylalanine, drug precursor of L-4-boronophenylalanine through two distinct and previously unreleased synthetic approaches. The expansion of the scope of this sequence of reactions to synthesize other non-proteinogenic amino acids demonstrates the robustness of the new synthetic route opening up the possibility of synthesis of other amino acids enriched in stable isotopes with biomedical application. The first approach consisted 6 steps and it was possible to obtain an overall yield of 24%. The second approach was performed in 4 synthetic steps obtaining the same amino acid with an overall yield of 34.77%.

Keywords: Morita-Baylis-Hillman, ¹⁰B, Stable Isotopes

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1. Glioblastoma Multiforme (GMB) e Terapia de Captura de Nêutrons	
por Boro (BNCT)	18
2.2. Isótopos Estáveis: ¹⁰ B	22
2.3. Emprego de Isótopos Estáveis na área biomédica	27
2.4. L-4-Borofenilalanina (L-4-BPA)	30
2.5. A Reação de Morita-Baylis-Hillman (MBH)	32
3. OBJETIVOS	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1. Análise Retrossintética	36
4.2. Preparação do Aduto de MBH 16	37
4.3. Acetilação do aduto de MBH: preparação do intermediário 15	38
4.4. Eliminação da hidroxila acetilada: preparação do intermediário 14	40
4.5. Clivagem oxidativa da dupla ligação e redução do produto ozonolizado:	
preparação do intermediário 23	41
4.6. Tosilação do álcool primário 23: preparação do intermediário 13	43
4.7. Adição de azida ao produto tosilado 13: preparação do intermediário 12	45
4.8. Redução da azida 12 e preparação do aminoéster 11	47
4.9. Propostas de incorporação do átomo de boro	48
4.10. Ampliação do escopo da rota sintética	51
4.10.1. Preparação dos adutos de MBH 21a-f	52
4.10.2. Preparação dos adutos acetilados 20a-f	54
4.10.3. Eliminação da hidroxila acetilada: preparação dos intermediários	
19a-f	55
4.10.4. Clivagem oxidativa da dupla ligação e adição da hidroxilamina:	
preparação dos intermediários 18a-g	56
4.10.5. Redução da oxima à amina: preparação dos intermediários 17a-f	58
5. CONCLUSÕES	61
6. PARTE EXPERIMENTAL	63
6.1. Considerações Gerais	63
6.2. Procedimentos experimentais, espectros e dados espectrais	65

6.2.1. Procedimento de preparação dos adutos de MBH 16 e 21a-f	65
6.2.2. Procedimento de preparação dos adutos de MBH acetilados 15 e	
20a-f	77
6.2.3. Procedimento de preparação dos adutos de MBH sem a hidroxila	
benzílica 14 e 19a-f	88
6.2.4. Procedimento de preparação do composto 23	99
6.2.5. Procedimento de preparação do composto 13	101
6.2.6. Procedimento de preparação do composto 12	103
6.2.7. Procedimento de preparação do composto 11	105
6.2.8. Procedimento de preparação das oximas 18a-g	107
6.2.9. Procedimento de preparação das aminas 17a-f	118
REFERÊNCIAS	128

1. INTRODUÇÃO

A presente dissertação de mestrado, enquadrada como um trabalho de Química Orgânica, mais especificamente de Síntese Orgânica, foi elaborada seguindo os parâmetros de formatação, numeração e apresentação dos tópicos como é comumente realizada nesta área do conhecimento. No entanto, ratifica-se que nenhuma norma de dissertações da Universidade de São Paulo (USP) foi violada e/ou alterada para essa adequação.

O câncer cerebral, apesar dos recentes avanços na pesquisa em neurociência, é muitas vezes incurável e com prognóstico obscuro. Diante da resistência e da inespecificidade dos tratamentos frente a esses tumores, o maior desafio atualmente está no desenvolvimento de estratégias moleculares mais específicas às células cancerígenas e menos agressivas aos pacientes.

A terapia de captura de nêutrons por boro, comumente conhecida como BNCT (do inglês *Boron Neutron Capture Therapy*) fornece um caminho de destruição seletiva das células tumorais poupando as normais, sendo esta terapia baseada na reação de fissão nuclear entre o ¹⁰B, um dos isótopos estáveis de boro, e nêutrons de baixa energia. Destaca-se a utilização de isótopos estáveis na área biomédica pelo fato destes serem inócuos ao organismo de seres biológicos.

Entre as dificuldades encontradas na obtenção de compostos enriquecidos, pode-se mencionar o desconhecimento da técnica isotópica, infraestrutura analítica (espectrômetro de massas), disponibilidade e custos destes compostos cuja tecnologia de separação dos isótopos e síntese não são repassada pelos países que a detém. Esse fato torna extremamente importante o desenvolvimento de novas tecnologias para o enriquecimento e síntese de compostos marcados no Brasil.

Com isso, abre-se com o presente trabalho a possibilidade de síntese do L-BPA (L-4-borofenilalanina) enriquecido em ¹⁰B, via reação de Morita-Baylis-Hillman, sendo este medicamento o de primeira escolha na BNCT contra o tipo de câncer cerebral mais agressivo, o Glioblastoma Multiforme (GMB).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Glioblastoma Multiforme (GMB) e Terapia de Captura de Nêutrons por Boro (BNCT)

Glioblastoma multiforme é um dos tumores cerebrais mais frequentes em adultos. Apesar dos recentes avanços da neurocirurgia e dos tratamentos através de radiação e agentes quimioterápicos, GMB é ainda uma doença incurável que possui um fácil e rápido crescimento das células tumorais atingindo o tecido cerebral normal, sendo seu prognóstico permanecendo ainda obscuro (YAMAMOTO et al., 2009). O tratamento convencional para doença combina intervenção cirúrgica, quimioterapia e radioterapia, proporciona aos pacientes uma sobrevida de 12,1 a 14,6 meses (ANTON et al., 2012).

Há um progresso nas modalidades de tratamento para este tipo de câncer quando comparado com outros tumores sólidos para a diminuição da mortalidade de pacientes nas últimas décadas por meio do melhor entendimento da patogenicidade e das estratégias terapêuticas da doença (YARGETAL et al., 2012). As pesquisas sobre este tipo de câncer cerebral são conduzidas no mundo em um ritmo notável com alguns estudos focando na identificação de eventos genéticos anormais, identificação e caracterização de células-tronco, terapias combinadas e modulação das respostas imunológicas das células tumorais (ADAMSON et al., 2009).

De acordo com o *CBTRUS statistical report*, um sistema de registro de doenças cerebrais nos Estados Unidos, metade dos pacientes com GMB são maiores de 65 anos, os quais, segundo os pesquisadores, reagem mais lentamente e são mais relutantes à terapias mais agressivas de tratamentos. Estudo semelhante foi realizado pelo *European organisation for research and treatment of cancer* que observou resultados semelhantes que comprovam que pacientes mais idosos não usufruem dos benefícios proporcionados pelo tratamento medicamentoso tampouco da radioterapia (BARTER et al., 2012).

Apesar dos avanços, pesquisadores se deparam ainda com árduos desafios sobre o GMB no tocante das limitações da retirada cirúrgica do tumor, na qual resíduos tumorais não são eficazmente retirados, na difícil biodistribuição da droga através da barreira hematoencefálica e na toxicidade do tecido normal quando fortemente irradiado no tratamento com radioterapia (AUFFINGER et al., 2012).

Diante da resistência e da inespecificidade dos tratamentos frente ao tumor, o maior desafio está no desenvolvimento de estratégias moleculares mais específicas às células tumorais e menos agressivas aos pacientes que em grande parte são idosos.

O conceito da terapia de captura de nêutrons (NCT) é baseado na observação de que certos nuclídeos, radioativos ou estáveis, possuíam a capacidade de absorver nêutrons produzindo, através de fissão nuclear, quantidade de energia letal para células (BARTH et al., 2005). A seção de choque (do inglês *cross section*), medida em barns (1 barn = 10^{-24} cm²) é uma importante propriedade física dos nuclídeos e alguns destes dados são apresentados na Tabela 1.

Nuclídeo	Seção de Choque	Nuclídeo	Seção de Choque
	(barns)		(barns)
⁶ Li	942	¹⁵¹ Eu	5800
¹⁰ B	3838	¹⁵⁵ Gd	61000
²² Na	32000	¹⁵⁷ Gd	255000
⁵⁸ Co	1900	¹⁶⁴ Dy	1800
¹¹³ Co	19800	¹⁸⁴ Os	3000
¹²⁶	6000	¹⁹⁹ Hg	2000
¹³⁵ Xe	2600000	²³⁰ Pa	1500
¹⁴⁸ Pm	10600	²³⁵ U	580
¹⁴⁹ Sm	42000	²⁴¹ Pu	1010

 Tabela 1 - Dados de seção de choque de alguns nuclídeos

Fonte: Barth et al. (2005)

A NCT envolve um sistema binário de tratamento para o câncer, no qual primeiramente administra-se no paciente um fármaco para posterior incidência de feixe colimado de nêutrons de baixa energia (BARTH et al., 2012).

A terapia de captura de nêutrons por boro (BNCT) fornece um caminho de destruição seletiva das células tumorais poupando as normais, sendo esta terapia baseada na reação de fissão nuclear mostrada no Esquema 1. Essa reação ocorre

quando o ¹⁰B, um dos isótopos estáveis de boro, é irradiado por um feixe de nêutrons que produz energia (do inglês *linear energy transfer – LET*) além de emitir uma partícula α (⁴He) e uma de ⁷Li (SOLOWAY et al., 1998).



A quantidade adequada de ¹⁰B no tumor necessita estar seletivamente distribuída por toda célula tumoral (~20µg g⁻¹ de B do tumor ou ~10⁹ átomos de ¹⁰B tumor⁻¹) para que a destruição celular ocorra exclusivamente nas células malignas. A quantidade de energia liberada que gera a destruição celular ocorre em um limite de 5-9 µm, dimensões essas compatíveis com o diâmetro celular, o que demonstra a especificidade desta terapia (BARTH et al., 2012). Detalhes do processo de fissão nuclear em uma célula contendo ¹⁰B podem ser visualizados na Figura 1.





Alguns fatores são considerados fundamentais para o sucesso desta terapia, destacando: baixa toxicidade sistêmica; rápida eliminação do sangue e dos tecidos normais; persistência de ¹⁰B no tumor durante a BNCT e concentração majoritária de

¹⁰B nas células tumorais (>3-4:1). Esta última informação garante a especificidade da terapia, já que são poupadas células normais em detrimento das tumorais (BARTH et al., 2005).

Os primeiros fármacos utilizados na BNCT, chamados de primeira e segunda geração (décadas de 1950 e 1960 respectivamente), eram análogos do ácido bórico, sendo estes não seletivos, com pouca retenção tumoral e baixa especificidade pelas células cancerígenas (BARTH et al., 2012). Neste contexto, emergem os dois principais fármacos utilizados nessa terapia: L-4-borofenilalanina (L-BPA) e o mercaptoundecaidro-closo-dodecaborato de sódio (BSH) (Figura 2), sendo estes com características superiores quando testados em ensaios clínicos (BEDDOE et al., 1997).

Estudos clínicos das drogas supracitadas em pacientes com GMB utilizando a técnica de captura de nêutrons por boro têm sido realizados com sucesso em países como Japão (KAWABARA et al., 2011), Estados Unidos (DIAZ et al., 2003), Suécia (CAPALA et al., 2003), Finlândia (KANKAANRANTA et al., 2011), entre outros. Detalhes da evolução no tratamento do tumor por BNCT é apresentado na Figura 2 (JOENSUU et al., 2003).



Antes de BNCT 1 mês após BNCT 3 meses após BNCT **Figura 2 -** Irradiação de paciente diagnosticado com GMB em três períodos diferentes (JOENSUU et al., 2003) e estrutura do BSH.

2.2. Isótopos Estáveis: ¹⁰B

O boro (B) é o elemento semi metálico mais utilizado na terapia de captura de nêutrons no tratamento de tumores cerebrais cujo comportamento químico é muito similar ao do silício e relativamente simples quando comparado com o de outros oxiânions (SIMPSON et al., 1997). Ao contrário de outros elementos com um número reduzido de elétrons e grande número de orbitais disponíveis para ligação química, aliado ao seu alto potencial de ionização, o boro elementar não é encontrado na natureza, porque está sempre combinado com o oxigênio para a formação de compostos covalentes. Espécies de B_2O_3 normalmente reagem com água para formar o ácido bórico [B(OH)₃], que atua como ácido fraco, tendendo a formar íons $B(OH)_4^-$ pela incorporação de uma hidroxila à sua molécula (KEREN et al., 1985).

O boro é constituído de dois isótopos estáveis de numero de massa 10 e 11, apresentando abundancia de 19,78 e 80,22 % respectivamente (BIEVRE et al., 1985). O interesse na determinação desse elemento vem aumentando recentemente, desde que boro é um elemento essencial para o metabolismo das plantas, animais e seres humanos (SAH et al., 1997). O ⁸B é o radioisótopo com meia vida mais longa, 0,770s, como mostrado na Tabela 2, tempo inexprimível para trabalhos científicos empregando o mesmo com traçador radioativo.

Isótopos	Tempo de meia- vida (T½)	Decaimento	Abundância isotópica natural (%)
⁷ B	4.10-22s	Р	
⁸ B	0,770s	β+, 2α	
⁹ B	8.10-19s	p, 2α	
¹⁰ B	Estável		19,8
¹¹ B	Estável		80,2
¹² B	0,0202s	β ⁻	
¹³ B	0,0174s	β	
¹⁴ B	14 ms	β	
¹⁵ B	10,4ms	β-	
¹⁷ B	5,1ms	β-	
¹⁹ B	-	β ⁻	

 Tabela 2 - Isótopos do elemento Boro

Fonte: Sah et al. (1997)

Desta forma, considerando as dificuldades do uso dos radioisótopos do boro e a existência de dois isótopos estáveis de B (¹⁰B e ¹¹B), bem como a alta seção de choque do ¹⁰B, possibilitam a produção de compostos marcados ou enriquecidos em ¹⁰B, caracterizados por apresentarem abundâncias isotópicas acima da natural. Para tanto, em uma primeira etapa, torna-se de fundamental importância o domínio de métodos de separação dos isótopos de boro (¹⁰B e ¹¹B).

Vários métodos têm sido propostos para a separação isotópica de ¹⁰B com consequente enriquecimento no isótopo leve, entre os métodos pode-se mencionar: separação fotoquímica (exemplo Laser de CO₂); destilação fracionada; difusão térmica, cromatografia líquida e cromatografia de troca iônica.

Kronberger e Nettley (1957) descrevem um sistema para obtenção de ¹⁰B com elevado enriquecimento no isótopo leve ¹⁰B, utilizando-se da destilação fracionada de BF₃ à temperatura de -95 °C. Os autores determinaram o fator de fracionamento (α) e a altura equivalente de uma placa teórica (HETP) em uma pequena coluna de vidro, operando a -100 °C e -115 °C. A concentração ao longo da coluna com refluxo total possibilitou verificar a diferença de α e h, sendo α a razão da pressão de vapor entre p ¹¹BF₃/p¹⁰BF₃ e h a altura equivalente de uma placa teórica. Os autores obtiveram valores de α = 1,0065 ± 0,0003 e h = 2,53 cm para temperatura de destilação de -100 °C.

Makishima et al. (1957) determinaram a instabilidade térmica e a viscosidade do vapor de borato de trimetila, proposto ser excelente para o enriquecimento isotópico de ¹⁰B por difusão térmica.

Yoneda et al. (1959) estudaram pela primeira vez a separação dos isótopos de boro usando a metodologia de troca iônica. Os autores determinaram o fator de fracionamento dos isótopos de boro nas reações de troca entre solução aquosa de ácido bórico resina aniônica base forte. Com a utilização de solução de ácido bórico 0,03 mol L⁻¹ com 8% (m/m) de glicerol, obtiveram valores de α de 1,010 e 1,016 respectivamente. Os resultados preliminares mostraram que α aumenta com o decréscimo da concentração de ácido bórico e que provavelmente a presença de glicerol foi responsável pela diferença nos valores de α obtido para 0,1 mol L⁻¹ em ácido bórico (incrementa a acidez ou potencial ácido do H₃BO₃ na solução e essa diferença tem sido atribuída pela diferença na ionização do ácido bórico e por consequência uma diferença no α).

Palko et al. (1962) determinaram a constante de equilíbrio isotópico para a troca entre BF₃ e BF₃O(CH₃)₂ em sistema de destilação multi-estágio. Os resultados encontrados foram α = 1,029 ± 0,003; 1,033 ± 0,002 e 1,036 ± 0,002 para 22 °C; 4 °C e -8 °C respectivamente.

Rosset et al. (1964) realizaram um estudo completo sobre a separação dos isótopos de boro, utilizando reação de troca isotópica no equilíbrio entre H_3BO_3 em solução aquosa e íons borato e poliboratos em resinas trocadoras de anions do tipo amônio quaternário amoniacal (RCH₂N⁺(CH₃)₃). A fase da resina ficou enriquecida em ¹⁰B. A constante de equilíbrio decresceu de 1,018 a 1,009, para concentrações de ácido bórico de 0,01 mol L⁻¹ à 0,75 mol L⁻¹.

Urgell et al. (1964) estudaram a separação dos isótopos de boro, por cromatografia de troca iônica. No caso do boro, foi obtido um fator de fracionamento igual a 1,035 – 1,027 (função da concentração) e 1,024 para complexo boro-manitol e 1,027 para boro-glicerol. Os autores obtiveram 61% em átomos de ¹⁰B, em sistema de resina, carregadas com H_3BO_3 ($H_2BO_3^{-1}$) e deslocamento com ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹.

Christoph et al. (1976) estimaram o fator de fracionamento (α) para a reação de troca entre o H₃¹⁰BO₃ em solução e ¹¹B(OH)₄ na fase resina, onde verificou-se uma dependência quantitativa de α com a concentração de ácido bórico.

Sakuma et al. (1980) enriqueceram ${}^{10}B$ à 91% em átomos, partindo da concentração de 19,8% pelo simples processo de eluição de uma banda de H₃BO₃ 0,1 mol L⁻¹ por 256 cm com água deionizada, porém com elevado deslocamento da banda em sistema de colunas de resina base fraca Diaon WA 21 80-100 "mesh", ligadas em série à 40 °C.

Itoh et al. (1985) estudaram a influência da concentração de ácido bórico e da temperatura de operação na separação de ¹⁰B. No trabalho foi empregada resina aniônica base fraca Diaion WA 21. O fator de fracionamento diminui com o aumento da temperatura e da concentração de ácido bórico (α varia de 1,013 a 1,0073) variando a temperatura e concentração de H₃BO₃ de 25 °C (0,1 mol L⁻¹) e 76 °C (0,6 mol L⁻¹).

Carneiro Junior et al. (1994) estudaram a separação de ¹⁰B por cromatografia de troca iônica utilizando colunas de resinas Dowex 1X8 e Dowex 2X8. As colunas apresentavam 100 cm de comprimento e 1,4 cm de diâmetro. No processo a solução

eluente de ácido clorídrico flui no leito da resina sob pressão da ordem de 0,2 MPa em atmosfera de N₂. O enriquecimento verificado foi da ordem de 43 e 40% quando se utilizou de H_3BO_3 0,1 Eq L⁻¹ e resina Dowex 1X8 e Dowex 2X8, com a banda sendo deslocada por 18,7 m e 13,3 m.

Em todos os trabalhos empregando a técnica isotópica com material enriquecido em ¹⁰B, é fundamental a disponibilidade de três etapas: a) obter o material marcado com o isótopo ¹⁰B; b) métodos de preparo de amostras (plantas, solo, compostos químicos contendo boro), de análise isotópica e de teor; c) conhecimento do uso da técnica isotópica em várias áreas da ciência.

Deve-se destacar que o Laboratório de Isótopos Estáveis do Centro de Energia Nuclear na Agricultura/USP, desenvolve a mais de 35 anos métodos de separação e produção de compostos enriquecidos nos isótopos estáveis de Nitrogênio e Enxofre e mais recentemente de Carbono e Boro, fazendo-se uso da técnica de cromatografia de troca iônica (Figura 3).



Figura 3 - Sistema de colunas cromatográficas com resina aniônica (Dowex 1X8) para separação dos isótopos estáveis de B

Assim, a partir da obtenção de algumas moléculas básicas enriquecidas nos isótopos de elementos leves de interesse (¹⁵NH₃; ³⁴SO₂; ¹³CO₂), foi possível a síntese de vários compostos enriquecidos, destacando: ¹⁵NH₃aq e ¹⁵NH₃anidra

(BENDASSOLLI et al., 1988; 2002); $CO(^{15}NH_2)_2$ (BENDASSOLLI et al., 1989); alanina-¹⁵N (OLIVEIRA et al., 2001); glicina¹⁵N (TAVARES et al., 2006; 2010); ¹³CO(NH₂)₂ (SANT'ANA FILHO et al., 2013); (¹⁵NH₄)₂³⁴SO₄ (MAXIMO et al., 2005), entre outros.

Deve-se ainda destacar o domínio de método inédito envolvendo a separação dos isótopos estáveis de N, empregando a cromatografia de troca iônica em sistema cascata, possibilitando a obtenção de compostos nitrogenados com elevado enriquecimento em ¹⁵N (MAXIMO et al., 2013).

Vários estudos de separação de isótopos de boro (¹⁰B e ¹¹B) por cromatografia líquida foram realizados com resinas específicas com glucamina com o grupo funcional de n-metil que têm a afinidade específica para ácido bórico e íon de borato. Este tipo de resina é fortemente dependentes da temperatura e do pH da solução eluente e o fator de separação dos isótopos de boro variou-se entre 1.010 e 1.022. (MUSASHI et al., 2006).

A reação de troca química gás-líquida é outra forma de separação dos isótopos de boro, ¹⁰B e ¹¹B, que ocorre por meio de uma destilação que envolve o equilíbrio isotópico entre o fluoreto de boro gasoso e um fluoreto-doador de boro líquido (HAN et al., 2006). A produção de ¹⁰B por reação de troca química utilizando fluoreto de boro e acetona para elevada demanda do elemento não é adequada, pois a maior limitação desta via de produção é a utilização de solvente orgânico.

As determinações isotópicas de B (% de átomos de ¹⁰B e/ou ¹¹B) podem ser realizadas por uma série de técnicas, entre elas, a espectrometria de massas por ionização térmica (TIMS) ou por impacto eletrônico (EIMS ou IRMS) e a espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS), sendo esta última ilustrada na Figura 4. Embora, a espectrometria de massas, com ionização por impacto eletrônico, necessite transformar o analito de interesse em uma forma gasosa (demandando um pouco mais de trabalho, nesta etapa) é a técnica que oferece melhor precisão para a maioria dos elementos (BARNES et al., 1993). A espectrometria de massas com fonte de plasma foi estudada por Bellato et al. (2003), para determinação isotópica (razão isotópica) e elementar de B, em amostras vegetais onde algumas dificuldades foram descritas entre as quais: efeito memória; discriminação de massas dos isótopos de B e interferência de carbono na determinação de B.



Figura 4 - Espectrofotômetro de massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS)

2.3. Emprego de Isótopos Estáveis na área biomédica

O emprego de isótopos estáveis como marcadores e/ou fármacos em pesquisas e tratamentos clínicos, baseado em sua quantificação por espectrometria de massas de razão isotópica (IRMS) ou reações nucleares (como na BNCT), destacam-se por serem excelentes técnicas para estudos e procedimentos envolvendo, por exemplo, metabolismo energético e proteico, absorção de nutrientes, esvaziamento gástrico, infecção gástrica por *Helicobacter pylori* (HP) e tratamento de tumor cerebral (descrito em 1.1). Esses métodos com isótopos estáveis apresentam elevada precisão, são inócuos, seguros, pouco invasivos (em muitos a administração do composto se faz por via oral) e aplicáveis a grupos vulneráveis como gestantes, idosos, recém-nascidos e pacientes com diversas doenças agudas e crônicas.

Assim, nas últimas três décadas, notadamente pelo advento da análise isotópica por espectrometria de massas, o uso de compostos enriquecidos em isótopos estáveis foi notório (BASILE FILHO; MARCHINI et al., 2004).

Krebs et al. (1995) realizaram um dos primeiros testes clínicos utilizando isótopos estáveis de zinco (Zn) em humanos. Segundo os autores os testes utilizando a técnica isotópica foram impulsionados pelos avanços na espectrometria de massas e, até a década de 1980, poucos resultados haviam sido apresentados. No trabalho os isótopos estáveis de Zn (⁶⁷Zn, ⁶⁸Zn e ⁷⁰Zn) foram empregados para

avalizar o papel deste metal no metabolismo humano. Assim, foi possível elucidar alguns aspectos importantes sobre sítios de ligações de DNA em transcrições de proteínas e no comportamento de receptores nucleares como esteroides, hormônios tireoidianos, ácido retinóico e vitamina D.

Abrams et al. (1999) publicaram uma revisão que discute o avanço do uso de isótopos estáveis na avaliação da absorção de minerais por crianças. O autor aborda a importância, principalmente do cálcio e do ferro, na dieta alimentar dos "menores" lembrando o papel crucial destes minerais no crescimento e desenvolvimento, provendo uma proteção maior contra doenças como anemia e osteoporose.

A técnica isotópica também foi utilizada a partir de incorporações de leucina deuterada (Leu-d3) para elucidar aspectos funcionais na transcrição de proteína (ONG et al., 2002). Através desta técnica, denominada SILAC (do inglês, *stable isotope labeling by amino acids*), pode-se notar que o crescimento celular não é diferenciado pela incorporação do isótopo marcado, porém ratificaram-se as vantagens do uso de isótopos estáveis no que tange a não limitação de dose quando comparado com os radioisótopos e a possibilidade de se averiguar a quantificação relativa de mudanças na expressão proteica durante o processo de diferenciação das células. Recentemente, Collier et al. (2010), Harkness et al. (2012) e Prins e Wang (2012) utilizaram-se dessa técnica para identificar, quantificar e caracterizar formas proteicas que constituem o esqueleto de células-tronco embrionárias, sendo estas relevantes na elucidação de aspectos importantes de diversas doenças genéticas.

Pillay et al. (2010) demonstraram o uso de isótopos estáveis para averiguar a vida útil de neutrófilos, sendo estas células essenciais na resposta imunológica e defesa do nosso organismo, por meio da marcação de ²H₂O sob condições homeostáticas.

Schellekens et al. (2011) publicaram uma completa revisão sobre a aplicação da tecnologia de isótopos estáveis na clínica farmacológica, destacando três principais usos: avaliação farmacológica da droga na determinação do seu perfil farmacocinético e mecanismo de ação; elucidação de aspectos de biodistribuição através de parâmetros como biodisponibilidade e perfil de excreção e, na determinação da terapia farmacológica específica para cada paciente, conceito este comumente chamado de medicina personalizada. A infecção crônica proporcionada pelo HP tem alta prevalência em todo o mundo, sendo a principal causa de gastrites crônicas e úlceras pépticas, além de ser fator de risco para o câncer gástrico (GRAHAM et al., 1994), considerado o segundo mais frequente tipo de câncer no mundo (CORREIA et al., 1996; NEWNHAM et al., 2003). O diagnóstico da infecção tem sido, com mais frequência, realizado a partir de análise de fragmentos de biópsia, obtidos por endoscopia (método invasivo), fazendo-se uso do teste da urease, histologia e PCR (FERRAZ et al., 1998). Paralelamente, o diagnóstico pode ser obtido por procedimentos não invasivos, que compreendem o teste respiratório empregando a uréia enriquecida no isótopo estável ¹³C (CASTRO et al., 2004; SILVA, et al., 2010).

Estudos objetivando detectar a ingestão e biodisponibilidade de nutrientes e composição corporal também podem ser realizados com a utilização dos isótopos estáveis (IYENGAR et al., 2002). Estes representam importante ferramenta na área médica, principalmente como instrumento de pesquisa clínica e de diagnóstico (JUNQUEIRA-FRANCO et al., 2000). Pode-se ainda destacar que a metodologia isotópica tem sido largamente utilizada para avaliar o *turnover* e a oxidação de aminoácidos, glicose e ácidos graxos, pela administração de precursores marcados e rastreamento das vias metabólicas empregando-se a espectrometria de massas (PFRIMER et al., 2006).

Pode-se ainda destacar um elevado número de trabalhos científicos envolvendo estudos do metabolismo proteico em idosos com uso de aminoácidos enriquecidos em ¹⁵N, envolvendo diferentes níveis de ingestão proteica (BOS et al., 2000; VOLPI et al., 2000; WOLPE et al., 2002; CHEVALTER et al., 2003).

No Brasil, os trabalhos envolvendo o uso de aminoácidos enriquecidos em isótopos estáveis ainda são reduzidos, notadamente devido às dificuldades na obtenção de alguns compostos enriquecidos isotopicamente.

Entre as dificuldades, pode-se mencionar o desconhecimento da técnica isotópica, infraestrutura analítica (espectrômetro de massas) e disponibilidade e custos dos compostos enriquecidos cuja tecnologia de separação dos isótopos e síntese não são repassados pelos países que o detém devido a aspectos econômicos e, muitas vezes, estratégicos, o que torna extremamente importante o desenvolvimento de novas tecnologias para o enriquecimento e síntese de compostos marcados no Brasil.

2.4. L-4-Borofenilalanina (L-4-BPA)

Principal fármaco utilizado na BNCT contra o glioblastoma multiforme, o L-BPA enriquecido em ¹⁰B (Figura 5) tem sido alvo de muitas propostas sintéticas. Snyder et al. (1958) sintetizaram o substrato racêmico observando ser este um cristal branco e muito solúvel em água, destacando já naquela época, o potencial uso deste aminoácido em estudos biológicos.



Figura 5 - Estrutura química do composto L-4-BPA

Samsel e Rouge (1992) obtiveram êxito na síntese da molécula de L-BPA com excelentes excessos enantioméricos e rendimento global de 23%. Neste estudo patenteado pelos autores, partiu-se do bromo-benzaldeído **2** com etilenoglicol para formar **3**, este reagindo com Mg forma o reagente de Grignard para em seguida reagir com tributil borato gerando **4**, como mostrado no Esquema 2. Rotas sintéticas semelhantes a esta foram publicadas posteriormente (KIRIHARA, 1993; NAKAO, 1996).



Esquema 2 - Primeira síntese assimétrica do L-BPA proposta por Samsel e Rouge

Recentemente, a síntese do L-BPA foi revisitada por alguns pesquisadores (Esquema 3). Malan e Morin (1998) sintetizaram, a partir de **5**, o L-BPA utilizando *dppf* (difenilfosfina-ferroceno) como catalisador para o 4-iodo-fenilalanina obtendo um ee >97%, em uma rota de 4 etapas, com 22% de rendimento global. Partindo do mesmo substrato de Malan e Morin (1998), Takamura (2000) variou o substituinte X na posição 1,4 obtendo bons rendimentos globais e excelentes ee. Zaidlewicz et al. (2004) obtiveram êxito na preparação do fármaco através da utilização do 1,4-dibromobenzeno **6** como material de partida, em uma reação na qual é gerado o reagente de Grignard sendo este substituído posteriormente pelo átomo de boro na posição 1,4 com um rendimento global de 70%. Hattori et al. (2007) desenvolveram uma rota sintética complexa partindo da amina **7**, na qual observa-se seguidas proteções e desproteções dos grupos amina e hidroxila, acarretando em um grande número de etapas para a síntese do L-BPA e um baixo rendimento global.

Sivaev e Bregadze (2008) estudaram algumas abordagens sintéticas para obtenção do L-BPA. Entre elas, destaca-se a utilização do 1,4-diiodobenzeno **8**, como material de partida, para a formação da ligação C_2 - C_{ar} obtendo um rendimento global de 25% e levou a obtenção dos adutos **9** e **10**, que se diferem pelos grupos amínicos introduzidos na cadeia, além disso, no composto **9** o átomo de boro apresenta um grupo de proteção.



Esquema 3 - Algumas abordagens sintéticas para o L-BPA

2.5. A Reação de Morita-Baylis-Hillman (MBH)

A reação de Morita-Baylis-Hillman, de forma geral, pode ser definida como uma reação de condensação entre carbonos eletrofílicos sp² (geralmente um aldeído ou uma imina) e a posição α de uma olefina com grupos retiradores de elétrons (EWG) catalisada por uma amina terciária ou uma fosfina, gerando uma nova ligação σ C-C (Esquema 4).



Esquema 4 - Detalhes da reação de MBH

Além disso, algumas vantagens transformam a reação de MBH como uma metodologia sintética eficiente: é regio e quimiosseletiva; possui uma elevada economia de átomos, requer condições brandas de trabalho fornecendo moléculas polifuncionalizadas, que através de transformações químicas podem gerar uma série de intermediários sintéticos, fármacos, etc. Origina-se pelo menos um centro estereogênico que, se controlado, pode aumentar o potencial dessa reação (COELHO; ALMEIDA, 2000).

O mecanismo proposto inicialmente, mostrado no Esquema 5, para a reação de MBH contempla 4 etapas: a adição de Michael da amina terciária (I) ao sistema α , β -insaturado (II) formando o *zwitterion* (III). Posteriormente, ocorre a adição aldólica entre III e o aldeído (IV) gerando o alcóxido (V) que, em um estado de transição cíclico, pode formar o enolato (VI) envolvendo uma transferência de próton. Neste estágio, ocorre a eliminação do catalisador que volta ao ciclo catalítico, levando à formação do produto β -hidroxi- α -metileno carbonilado VII (aduto de MBH) (HOFFMAN et al., 1983; HILL et al., 1990; FORT et al., 1992; DREWS et al., 1988).



Esquema 5 - Proposta mecanística inicial para a reação de MBH

Versões assimétricas dos adutos de MBH e formação de produtos de reação cíclicos (Esquema 6) impulsionaram a comunidade científica a buscar alternativas ao mecanismo proposto. Dessa forma, destaca-se primeiramente a contribuição de McQuade et al. (2005) mostrando existir um significativo efeito cinético isotópico

(ECI) para o próton α-carbonila do sistema acrílico com valores superiores a 5,2±0,6 para a reação realizada em DMSO.

Demonstrou-se ainda que a reação de MBH seria de segunda ordem em relação ao aldeído e que a etapa determinante da velocidade da reação seria aquela relacionada com a transferência de próton, explicando o porquê da formação de dioxanonas (ver composto VI, esquema 6)

Estudo complementar foi realizado por Aggarwal et al. (2007), no qual, apoiado por cálculos teóricos, demonstraram a ideia de que dois mecanismos poderiam ocorrer simultaneamente, de que a reação era autocatalítica a partir de 20% de conversão e que o próprio aduto de MBH seria capaz de agir como fonte de prótons. Ratifica-se que nos dois mecanismos propostos a transferência de prótons ocorre via estado de transição cíclico de 6 membros (VIII e X), este com menor energia que o estado de transição de 4 membros proposto inicialmente.



Esquema 6 - Novas propostas para o mecanismo da reação de MBH

Os grupos de pesquisa do Professor Coelho e Eberlin destacaram-se por apresentar uma importante contribuição na elucidação do mecanismo da reação de MBH através de experimentos de espectrometria de massas sequencial, em que os intermediários mais importantes propostos por McQuade e Aggarwal puderam ser interceptados e caracterizados (COELHO et al., 2009).
3. OBJETIVOS

O desenvolvimento do trabalho compreende:

Estabelecimento de metodologia para síntese do aminoácido bromofenilalanina e outros aminoácidos não-proteinogênicos via reação de Morita-Baylis-Hillman para posterior inserção do átomo de boro enriquecido em ¹⁰B com intuito de obtenção do fármaco L-BPA.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise Retrossintética

Racionalizou-se uma rota sintética alternativa com intuito de obter o aminoácido **11**, precursor do L-BPA. A proposta retrossintética para a preparação da nossa molécula alvo (**11**), é mostrada no Esquema 7.



Esquema 7 - Analise retrossintética da primeira rota proposta para a preparação do 4bromofenilalanina **11** via MBH

A síntese do aminoácido **11** poderia ser realizada através da redução da azida **12**. Este último poderia ser preparado através da adição de NaN₃ ao aduto **23** sendo a hidroxila deste transformada em um bom grupo de saída. Por fim, o composto **23** poderia ser acessado pelo aduto de MBH **16**, este proveniente do aldeído p-bromo-benzaldeído **22**.

4.2. Preparação do Aduto de MBH 16

Iniciamos a execução da estratégia utilizando o p-bromo-benzaldeído **22**. A escolha deste aldeído é devido ao fato de saber que o átomo de bromo seria um bom grupo de saída na troca pelo átomo de ¹⁰B, quando o aminoácido estivesse preparado.

Sendo assim, o aldeído p-bromo-benzaldeído **22** foi então utilizado em uma reação de MBH, pelo tratamento com DABCO, na presença de um excesso de acrilato de metila e ultrassom. Nesta condição, o aduto de MBH mostrado no Esquema 8, foi obtido com rendimento da ordem de 75%.



Reagentes e condições: a) DABCO, t.a., 6 dias,)))

Esquema 8 - Reação de formação do aduto de MBH 16

O aduto de MBH **16** formado é uma molécula polifuncionalizada que apresenta todas as funções necessárias para a preparação do aminoácido **11** necessitando efetuar interconversões de grupos funcionais. A formação do aduto foi confirmada pela análise de seus espectros na região do infravermelho (IV), de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C.

No espectro no IV do aduto **16** é evidenciado o surgimento de uma banda em 3342 cm⁻¹ referente à hidroxila benzílica e uma banda em 1717 cm⁻¹ referente ao estiramento C=O da carbonila e uma banda em 1635 cm⁻¹ referente ao estiramento da ligação dupla.

No espectro de RMN de ¹H (Figura 9) nota-se que o sinal referente ao hidrogênio do material de partida (aproximadamente em 10 ppm) não existe mais, no entanto é evidente o aparecimento de sinais característicos dos adutos de MBH. Esses são representados por dois dubletos em 7,24-7,46 ppm, referente aos hidrogênios aromáticos, dois singletos em 5,83-6,33 ppm referente aos hidrogênios

metilênicos, um dubleto em 5,49 ppm, referente ao hidrogênio carbinólico e benzílico e um singleto em 3,71 ppm, referente à metila do éster. Nota-se ainda um dubleto em 3,30 ppm referente à ligação do hidrogênio intramolecular entre o hidrogênio da hidroxila benzílica e a carbonila.

No espectro de RMN de ¹³C (Figura 10) nota-se o aparecimento de sinais em 52,2 ppm, referente ao carbono da metila, 72,8 ppm referente ao carbono carbinólico, 121,9 ppm referente ao carbono terminal da dupla ligação, 216,5 ppm e 128,5 ppm, referentes aos carbonos equivalentes do anel benzênico, 131,7 ppm referente ao carbono olefínico, 140,5 ppm e 141,7 ppm referentes aos outros carbonos aromáticos da molécula e 166,8 ppm ao carbono da carbonila.

4.3. Acetilação do aduto de MBH: preparação do intermediário 15

A reação de acetilação, destacada no Esquema 9, utilizando 1,5 eq. de cloreto de acetila, DMAP (cat.), 2 eq. de Et_3N em diclorometano foi isolado obtendo um rendimento de 87%, após 2 horas de reação.



Reagentes e condições: a) CH₂Cl₂, CH₃COCl/0°C, Et₃N, DMAP, ta, 2 horas.

Esquema 9 - Reação de acetilação para a formação do aduto acetilado 15

O mecanismo de reação para essa acetilação ocorre através do ataque nucleofílico do par de elétrons livre da amina no carbono carbonílico, deslocalizando o par de elétrons da carbonila. Logo após a regeneração da carbonila, se forma uma espécie extremamente reativa que sofre um ataque nucleofílico do álcool primário no carbono eletrofílico formando um intermediário tetraédrico.

A partir daí, a carbonila é regenerada, e ocorre a saída do DMAP. Finalmente, a Et₃N atua como uma base abstraindo o protón e mantendo o pH do meio neutro tendo também importante papel no favorecimento da reação para a formação de produtos, já que se forma imediatamente cloridrato de trietilamônio, que precipita no meio reacional, o que serve também como indicativo da ocorrência da reação (Esquema 10).





A acetilação dos adutos de MBH foi confirmada pela análise dos espectros de IV por meio do desaparecimento das bandas de estiramento O-H de hidroxilas em torno de 3342 cm⁻¹. No espectro de RMN de ¹H (Figura 23) nota-se o aparecimento de um singleto na região de 2 ppm, correspondente aos hidrogênios da metila terminal do grupamento acetila adicionado ao composto e o desaparecimento do hidrogênio da hidroxila benzílica em 3,30 ppm.

Com relação ao espectro de RMN de ¹³C (Figura 24), nota-se que, em comparação ao espectro de ¹³C do aduto de MBH **16** há o aparecimento de um sinal em 20,98 ppm correspondente à metila do grupo de proteção da hidroxila benzílica e outro sinal em 169,22 ppm, correspondente à carbonila do mesmo grupo de proteção.

4.4. Eliminação da hidroxila acetilada: preparação do intermediário 14

Dando continuidade a nossa estratégia sintética, uma solução do produto acetilado em THF:H₂O em uma proporção de 3:1 foi tratada inicialmente com DABCO. Em seguida, NaBH₄ foi adicionado para fornecer o produto desoxigenado, como mostrado no Esquema 11 obtendo rendimento de 94%.



Reagentes e condições: a) THF:H₂O, DABCO, 15 minutos b) NaBH₄, t.a., 15 minutos

Esquema 11 - Reação de eliminação para a formação do composto 14

O mecanismo para esta eliminação consiste no ataque nucleofílico do par de elétrons livre da amina terciária (DABCO) no carbono metilênico (substrato) através de uma adição $S_N 2'$ com eliminação do acetato. Logo após há o ataque do hidreto ao carbono benzílico deslocalizando o par de elétrons e eliminando a amina terciária do substrato (Esquema 12).



Esquema 12 - Mecanismo de reação de eliminação do grupo -OAc para gerar o composto 14

A formação do composto **14** foi comprovada por espectroscopia de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C. Não se observou mudanças no espectro no IV em relação ao produto acetilado.

No espectro de RMN de ¹H (Figura 37), nota-se o desaparecimento do sinal em 6,40 ppm referente a um hidrogênio benzílico e o sinal em 2 ppm, referente à metila terminal do grupo de proteção. Observa-se também o aparecimento de um singleto em 3,57 ppm, referente aos dois hidrogênios benzílicos.

No espectro de RMN de ¹³C (Figura 38) observou-se o desaparecimento do sinal em 72,45 ppm referente à metila do grupo de proteção, assim como o sinal em 169,22 ppm, referente à carbonila do grupo de proteção.

4.5. Clivagem oxidativa da dupla ligação e redução do produto ozonolizado: preparação do intermediário 23

A etapa de ozonólise da ligação dupla de adutos de MBH é extensamente aplicada e bem estabelecida no desenvolvimento de trabalhos no laboratório de Síntese de Produtos Naturais e Fármacos do Instituto de Química da Universidade de Campinas (CORREIA et al., 2013; SANTOS; COELHO, 2012).

A reação de ozonólise do composto **14** ocorreu de maneira satisfatória sendo utilizado metanol como solvente e a temperatura controlada a -78 °C a fim de que não houvesse qualquer outro tipo de oxidação do material de partida. Notou-se que o produto ozonolizado é instável e sofre degradação quando purificado por cromatografia em coluna de sílica em gel. Assim, optou-se por adicionar 4 eq. de borohidreto de sódio e Na₂SO₄ (solução saturada) ao bruto da reação já dissolvido em metanol (20 mL). Essa reação "one-pot" forneceu o intermediário **23**, com rendimento de 82% (Esquema 13).



Reagentes e condições: a) O₃, MeOH, -78°C; b) NaBH₄, Na₂SO₄, ta.

Esquema 13 - Reação de ozonólise seguida de redução para a formação do álcool 23

A reação de ozonólise ocorre quando o ozônio reage com olefinas quebrando esta ligação para gerar dois grupos carbonílicos. Se a ligação dupla do alceno é substituída com carbono ou hidrogênio, os grupos carbonílicos formados podem ser cetonas ou aldeídos.

O ozônio reage com alceno via uma reação de cicloadição 1,3-dipolar formando um intermediário instável de cinco membros chamado malozonídeo. A próxima etapa caracteriza-se por uma reação de cicloadição 1,3-dipolar reversa, quando é quebrada uma ligação O-O e uma ligação C-C, gerando um composto carbonílico e outra espécie zwitteriônica, esta reagindo com o composto carbonílico para fornecer o ozonídeo (Esquema 14).



Esquema 14 - Mecanismo para formação do ozonídeo

Quando a ozonólise é realizada em solventes próticos, como exemplo o metanol, tem-se uma pequena mudança no mecanismo da reação, já que sendo o metanol um solvente nucleófilo, este evita a formação do ozonídeo, sendo o alcóxido gerado pelo ataque do metanol à cetona atacado pelo hidreto dando origem ao composto reduzido, como mostrado no Esquema 15 (CRIEGGE, 1975).



Esquema 15 - Mecanismo de ozonólise em solventes nucleófilos

A formação do álcool **23** foi comprovada por espectroscopia de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C.

No espectro no IV nota-se o desaparecimento do sinal correspondente ao estiramento da dupla ligação em 1635 cm⁻¹ e o aparecimento do sinal correspondente à hidroxila em 3317 cm⁻¹.

No espectro de RMN de ¹H (Figura 51) observa-se o desaparecimento dos dois singletos em 5,46 ppm e 6,22 ppm correspondentes aos hidrogênios metilênicos e do singleto em 3,57 ppm correspondente aos dois hidrogênios benzílicos. Por outro lado, percebe-se o aparecimento de um tripleto em 4,50 ppm correspondente ao hidrogênio vizinho à carbonila assim como de dois duplos dubletos em 2,90 ppm e 3,15 ppm correspondentes aos dois hidrogênios benzílicos.

No espectro de RMN de ¹³C (Figura 52) mostra-se o aparecimento de um sinal em 70,89 ppm correspondente ao carbono vizinho à carbonila e o desaparecimento dos sinais em 126,5 ppm e 139,5 ppm correspondentes aos carbonos da dupla ligação.

4.6. Tosilação do álcool 23: preparação do intermediário 13

A última etapa desta sequência será a incorporação do átomo de nitrogênio. Para isso, utilizou-se uma reação $S_N 2$ tendo como nucleófilo uma azida. Para fazermos essa reação, precisou-se ativar a hidroxila do α -hidroxi-éster transformando-o em um bom grupo de saída. Em metodologia bem estabelecida na literatura, o álcool foi dissolvido em diclorometano anidro e foi adicionado 1,20 eq. de Et₃N, 0,13 eq. de DMAP e 1,20 eq. de p-toluenossulfonila à temperatura ambiente. Após isolamento e purificação obteve-se o tosilato **13**, em 74% de rendimento, como mostrado no Esquema 16 (SHI et al., 2004).



Reagentes e condições: a) TsCl, CH₂Cl₂,Et₃N, DMAP, ta.

Esquema 16 - Reação de tosilação para formação do composto 13

O mecanismo para esta etapa baseia-se principalmente na alta eletrofilicidade do enxofre permitindo o ataque inicial do nitrogênio do DMAP ao mesmo promovendo sua ativação. Na sequencia ocorre o ataque do oxigênio do álcool formando primeiramente o sulfonato para em seguida ocorrer a abstração do próton pela Et₃N, gerando o composto tosilado, como mostrado no Esquema 17.



Esquema 17 - Mecanismo para reação de proteção da hidroxila

A formação do composto tosilado **13** foi comprovada por espectroscopia de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C.

No espectro no IV nota-se o desaparecimento do sinal correspondente à hidroxila em 3317 cm⁻¹ e o aparecimento de sinais em 1348 cm⁻¹ e 1176 cm⁻¹ referentes à deformação axial dos grupos S=O.

No espectro de RMN de ¹H (Figura 53) observa-se o aparecimento de um singleto em 2,5 ppm, correspondente à metila terminal do grupo tosila e o de dois dubletos referentes aos hidrogênios aromáticos do mesmo grupo em 7,25 ppm.

No espectro de RMN de ¹³C (Figura 54) nota-se o aparecimento de um sinal em 79,57 ppm, referente à metila do grupo tosila e sinais em 127,75 ppm, 129,70 ppm, 132,37 ppm e 145,30 ppm, correspondentes aos hidrogênios do anel benzênico do tosilato.

4.7. Adição de azida ao produto tosilado 13: preparação do intermediário 12

O composto tosilado foi dissolvido em DMSO e adicionou-se 1,2 eq. de NaN₃ aumentando a temperatura para 45°C, obtendo um rendimento de 61%. A reação é mostrada no Esquema 18 (SHI et al., 2004).



Reagentes e condições: a) NaN₃, DMSO, 45°C.

Esquema 18 - Reação de inserção de azida para a formação do intermediário 12

O mecanismo dessa etapa acontece via $S_N 2$ no qual há primeiramente um ataque do nucleófilo representado pela azida ao substrato contendo um excelente grupo abandonador, facilitando, desta forma, a etapa de substituição. Neste mecanismo há um estado de transição em que a ligação Carbono-Grupo Abandonador é rompida quase ao mesmo tempo em que a ligação Carbono-Nucleófilo é formada para enfim gerar o composto azídico, como mostrado no Esquema 19.



Esquema 19 - Mecanismo para reação envolvendo a substituição do grupo azídico pelo tosilato

A formação do composto azídico **12** foi comprovada por espectroscopia de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C.

No espectro no IV é notório o desaparecimento dos sinais referentes à deformação axial dos grupos S=O do tosilato e o aparecimento de sinal nítido em 2108 cm⁻¹ referente à azida. No espectro de RMN de ¹H (Figura 55) nota-se o desaparecimento do sinal em 2,50 ppm referente à metila terminal do tosilato assim como os dois dubletos em 7,25 ppm referentes aos hidrogênios do anel benzênico.

No espectro de RMN de ¹³C (Figura 56), nota-se o desaparecimento do sinal em 79,57 ppm referente à metila terminal do tosilato e dos sinais referentes aos carbonos benzílicos em 127,75 ppm, 128,4 ppm, 132,37 ppm e 145,30 ppm.

4.8. Redução da azida 12 e preparação do aminoéster 11

A redução de compostos azídicos à aminas é uma ferramenta muito útil para síntese de diversos compostos orgânicos como nucleosídeos, carboidratos, N-heterociclos, etc (KAMAL et al., 2002). A utilização de condições brandas, como mostrado no Esquema 20, é muitas vezes escolhida em detrimento a condições severas de reação. Neste caso, a azida **12** foi dissolvida em acetonitrila (10 mL), logo após é adicionado 9 eq. de Nal, 1,5 eq. de FeCl₃ a temperatura ambiente. Após o isolamento e purificação o aminoéster **11** foi obtido em 78% de rendimento.



Reagentes e condições: a) Nal, FeCl₃, acetonitrila, ta.

Esquema 20 - Reação de redução do composto azídico à amina formando o intermediário 11

Estudos recentes sobre este tema apontam que o mecanismo desta reação, apesar de ainda obscuro, envolveria a formação de um intermediário cíclico de iodo depois do ataque do íon triiodeto ao composto azídico (BARTOLI et al., 2007). O iodo é todo consumido durante o processo, justificando o uso de 9 equivalentes deste.

Logo após ocorreria a eliminação de N₂ do ciclo gerando o intermediário polivalente de iodo. A reação se completaria através da hidrólise para obter a amina (Esquema 21).



Esquema 21 - Reação de redução do composto azídico à amina formando o intermediário 11

A formação da amina **11** foi comprovada por espectroscopia de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C.

No espectro no IV nota-se o desaparecimento do sinal em 2108 cm⁻¹ referente à banda da azida e o aparecimento de uma sinal 3557 cm⁻¹ referente a amina.

No espectro de RMN de ¹H (Figura 57) observa-se uma grande semelhança ao espectro da azida.

No espectro de RMN de ¹³C (Figura 58) nota-se o aparecimento dos sinais em 34,9 ppm e 59,1 ppm referente aos carbonos benzílicos e o ligado ao grupamento amina e o desaparecimento dos sinais em 107,81 ppm e 135,12 ppm.

4.9. Propostas de incorporação do átomo de boro

Na tentativa de incorporação do átomo de boro ao amino-éster **11** sintetizado (que nesta última etapa seria reduzido a aminoácido) para gerar o fármaco L-BPA, houve uma extensa busca na literatura com intuito de finalização da molécula. Dentre os artigos selecionados (MIYAURA et al., 1995; MALAN; MORIN, 1998; YAMAMOTO et al., 2000; ASHTON et al., 2001; ZAIDLEWICZ.; WOLAN, 2002; CAMMIDGE et al., 2006; YAMAKAWA et al., 2011; O'CONNELL et al., 2012; CHATANI et al., 2012), pode-se verificar a existência de três métodos em comum para essa substituição, sendo a fonte de boro utilizada nestes casos como sendo o B(OiPr)₃ (triisopropil borato) ou o pinacolborano (Figura 6).



Figura 6 - Estruturas do Triisopropil borato - B(OiPr)₃ e pinacolborano

A primeira tentativa, baseado em Colobert et al. (2011), foi realizada inserindo em um balão previamente seco e sob atmosfera inerte, THF anidro, magnésio, cloreto de lítio e DIBAL-H (hidreto de diisobutil-alumínio), como mostrado no Esquema 22.



Reagentes e condições: a) Mg, LiCl, DIBAL-H, THF, ta.; b) B(OiPr)₃, 0°C.

Esquema 22 - Primeira proposta de incorporação do átomo de boro no esqueleto carbonônico

Após agitação por 15 minutos, o amino-estér **11**, dissolvido em THF, foi inserido no meio reacional para que o magnésio pudesse acoplar-se ao átomo de bromo, através de uma reação de Grignard. A reação foi mantida a temperatura ambiente por 15 horas, sendo então o $B(OiPr)_3$ inserido no meio reacional à 0 °C.

O acompanhamento da reação foi realizado através de placas de CCD (cromatografia em camada delgada) não observando, no entanto, consumo do material de partida nem o aparecimento de uma nova mancha na placa, podendo presumir que não ocorreu a formação do produto desejado. A técnica de RMN de ¹H também foi realizada, porém não se observou mudanças no espectro do material de partida.

A não incorporação do átomo de magnésio no esqueleto carbônico da molécula pode ter sido fundamental para o insucesso desta etapa.

A tentativa seguinte, a partir do método proposto por Zaidlewicz et al. (2004), foi realizada por meio da adição de 3,2 eq. de t-butil lítio (tentou-se também com nbutil lítio) dissolvido em THF em um balão previamente seco e sob atmosfera inerte e, logo em seguida, inseriu-se, gota a gota, o composto **11** dissolvido em THF a -78 °C. Deixou-se o meio reacional sob agitação constante por 2 horas antes da adição da fonte de boro (triisopropil borato), sendo esta inserida no meio reacional a 0 °C. A reação proposta (Esquema 23) permaneceu sob agitação por 24h horas.



Reagentes e condições: a) t-But-Li,THF, -78°C; b) B(OiPr)₃, 0°C.

Esquema 23 - Segunda proposta de incorporação de átomo de boro no esqueleto carbônico

O acompanhamento da reação também foi realizado através de placas de CCD não observando, no entanto, consumo do material de partida nem o aparecimento de uma nova mancha na placa, como indicativo de síntese do produto desejado. A técnica de RMN de ¹H também foi realizada, porém não se observou mudanças no espectro do material de partida.

A terceira e última proposta de incorporação do átomo de boro na posição 1,4 do anel benzênico foi norteada por Masuda et al. (1997), o qual descreve a inserção do átomo de boro em compostos aromáticos halogeno-substituídos utilizando cloreto de paládio (*dppf*), dioxano como solvente da reação, Et₃N como base e pinacolborana como fonte de boro. A reação proposta (Esquema 24) foi realizada a 80 °C por 2 horas, não observando consumo do material de partida tampouco formação do produto desejado.



Reagentes e condições: a) PdCl₂ (*dppf*), Et₃N, pinacolborana, 80°C.

Esquema 24 - Terceira proposta de incorporação de átomo de boro no esqueleto carbônico

4.10. Ampliação do escopo da rota sintética

Para o presente trabalho de mestrado, utilizaram-se, além do p-bromo benzaldeído como material de partida, seis aldeídos aromáticos com grupos doadores e retiradores de elétrons explorando uma nova rota sintética mais simples, com menor número de etapas e maior rendimento global: rendimento global da primeira rota sintética - 17,70%; rendimento global da segunda rota sintética – 34,77%. Essa ampliação de escopo ocorreu por meio da variação do substituinte R com o intuito de demonstrar a robustez da nova abordagem sintética apresentada (Esquema 25).



Esquema 25 - Analise retrossintética da segunda rota proposta para a preparação do 4bromofenilalanina **11** via MBH assim como a variação do aldeído de partida Com o intuito de reduzir o número de etapas, diminuindo assim o consumo de reagentes e aumentando o rendimento global da reação, ponderou-se que o aminoácido **17** poderia ser preparado através da redução da oxima representada no composto **18**, este podendo ser gerado a partir de uma reação "one-pot" logo após a ozonólise do aduto de MBH **21**.

4.10.1. Preparação dos adutos de MBH 21a-f

Diferentes aldeídos foram utilizados como material de partida permitindo a obtenção de adutos com variados padrões estruturais e de substituição. Na reação de formação dos adutos de MBH **21a-f** identificada no Esquema 26, 1 eq. do aldeído de partida foi colocado à temperatura ambiente com 5 eq. de acrilato de metila como solvente da reação e 0,65 eq. de DABCO como catalisador em ultrassom.



Reagentes e condições: a) DABCO, ta,)))



A Tabela 3 exibe os dados referentes aos adutos sintetizados assim como os respectivos rendimentos que variaram de bons a excelentes dependendo da configuração eletrônica do aldeído de partida.

Entrada		Tempo	Rendimento
Entraua	Aduto de MBH	(dias) ^b	(%) ^a
1	OH O OMe Br 16	6	75
2	OH O OMe CI CI	1	80
3	CI C	15	85
4	OH O OMe 21c	25	77
5	MeO MeO MeO OMe 21d	30	70
6	OH O OMe 21e	13	85
7	OH O OMe 21f	30	70

Tabela 3 - Rendimento e tempo de reação dos adutos preparados

^a Os rendimentos são referentes aos produtos isolados e purificados.

^b tempo de reação utilizando ultrassom.

O espectro no IV e os espectros de RMN de ¹H e ¹³C já foram detalhados e discutidos no item 4.2. (Figuras 11-22).

4.10.2. Preparação dos adutos acetilados 20a-f

A reação de acetilação, destacada no Esquema 27, é realizada utilizando 1,5 eq. de cloreto de acetila, DMAP (cat.), 2 eq. de Et₃N em diclorometano após 2 horas de reação.



Reagentes e condições: a) CH₂Cl₂, CH₃COCl/0°C, Et₃N, DMAP, ta.

Esquema 27 - Reação de acetilação para a formação dos adutos acetilados 20a-f

A Tabela 4 exibe os dados referentes aos adutos acetilados assim como os respectivos rendimentos e tempos de reação.

Entrada	Aduto acetilado	Substituinte (R)	Tempo	Rendimento
			(horas)	(%) ^a
1	15	1,4-Br-fenil	2,5	87
2	20a	1,3-CI-fenil	2	92
3	20b	1,4-CI-fenil	2	75
4	20c	1,4- <i>t</i> -Bu-fenil	2,5	81
5	20d	3,4,5-metóxi-fenil	2	71
6	20e	Fenil	2	70
7	20f	Piperonal	3	75

Tabela 4 - Rendimento e tempo de reação dos adutos acetilados

^a Os rendimentos são referentes aos produtos isolados e purificados.

O espectro no IV e os de RMN de ¹H e ¹³C já foram detalhados e discutidos no item 4.3., assim como o mecanismo da reação (Figuras 25-36).

4.10.3. Eliminação da hidroxila acetilada: preparação dos intermediários 19a-f

Dando continuidade a nossa estratégia sintética, uma solução do produto acetilado em THF:H₂O em uma proporção de 3:1 foi tratada inicialmente com DABCO. Em seguida, NaBH₄ foi adicionado para fornecer o produto desoxigenado, como mostrado no Esquema 28.



Reagentes e condições: a) THF:H₂O, DABCO, 15 minutos b) NaBH₄, t.a., 15 minutos

Esquema 28 - Reação de eliminação para a formação dos intermediários 19a-f

A Tabela 5 exibe os dados referentes aos adutos sem a hidroxila benzílica, assim como os respectivos rendimentos e tempos de reação.

Entrada	Entrada	Aduto sem OH	Substituints (D)	Tempo	Rendimento
	benzílico	Substituinte (R)	(minutos)	(%) ^a	
	1	14	1,4-Br-fenil	30	94
	2	19a	1,3-CI-fenil	30	95
	3	19b	1,4-CI-fenil	30	93
	4	19c	1,4- <i>t</i> -Bu-fenil	30	94
	5	19d	3,4,5-metóxi-fenil	30	90
	6	19e	Fenil	30	93
	7	19f	Piperonal	30	89

Tabela 5 - Rendimento e tempo de reação dos intermediários 19a-f

^a Os rendimentos são referentes aos produtos isolados e purificados.

O espectro no IV e os de RMN de ¹H e ¹³C já foram detalhados e discutidos no item 4.4., assim como o mecanismo da reação (Figuras 39-50).

4.10.4. Clivagem oxidativa da dupla ligação e adição da hidroxilamina: preparação dos intermediários 18a-g

A reação de ozonólise dos compostos **14** e **19a-f** ocorreu de maneira satisfatória sendo utilizando metanol como solvente e a temperatura controlada a -78 °C a fim de que não houvesse qualquer outro tipo de oxidação do material de partida. Notou-se que o produto ozonolizado é instável e sofre degradação quando purificado por cromatografia em coluna de sílica em gel. Isto posto, optou-se por conduzir o bruto da reação já dissolvido em metanol (20 mL), adicionar 4 eq. de cloridrato de hidroxilamina e 1 eq. de piridina em uma reação *one-pot*, fornecendo os intermediários **18a-g**. (Esquema 29).



Reagentes e condições: a) O₃, MeOH, -78 °C; b) NH₃OH.HCl, piridina, ta.

Esquema 29 - Reação de ozonólise seguida de substituição pela hidroxilamina para a formação dos intermediários **18a-g**

O mecanismo desta etapa da síntese difere do mostrado no item **4.5.**, já que o carbono da cetona formada no processo de ozonólise sofre uma adição nucleofílica da hidroxilamina e, após protonação do sistema e abstração de um hidrogênio da amina, é formada uma ligação entre o carbono e a hidroxila (RITSON et al., 2004).

Sabendo que o grupo OH não é um bom grupo de saída, acontece uma nova protonação do grupo hidroxila, eliminando-o do aduto, fazendo com que o par de elétrons do nitrogênio gere uma nova ligação com o carbono. Por fim, ocorre a abstração do hidrogênio ligado ao nitrogênio gerando a oxima (Esquema 30).



Esquema 30 - Mecanismo da adição de hidroxilamina à carbonila

Os dados referentes aos compostos amino-hidroxilados assim como os respectivos rendimentos e tempos de reação podem ser observados na Tabela 6.

Entrodo	=NH ₂ -OH	Substituinte (R)	Tempo	Rendimento
Entrada			(minutos)	(%) ^a
1	18a	1,4-Br-fenil	70	90
2	18b	1,3-CI-fenil	65	95
3	18c	1,4-CI-fenil	70	91
4	18d	1,4- <i>t</i> -Bu-fenil	80	94
5	18e	3,4,5-metóxi-fenil	80	94
6	18f	Fenil	65	92
7	18g	Piperonal	80	88

Tabela 6 - Rendimento e tempo de reação dos intermediários 18a-g

^a Os rendimentos são referentes aos produtos isolados e purificados.

A formação dos compostos amino-hidroxilados **18a-g** foi comprovada por espectroscopia de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C.

No espectro no IV nota-se o aparecimento da banda em 1570-1580 cm⁻¹ referente a ligação C=N da oxima.

No espectro de RMN de ¹H (Figuras 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71), observa-se o desaparecimento dos singletos referentes aos hidrogênios metilênicos entre 5,45-6,27 ppm.

Nota-se também que na Figura 71 referente ao espectro de ¹H do composto **18g** há sinais "duplicados" indicando a existência de dois isômeros.

No espectro de RMN de ¹³C (Figuras 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72) nota-se o desaparecimento dos sinais referentes ao carbono metilênico entre 126,2-129,7 ppm.

4.10.5. Redução da oxima à amina: preparação dos intermediários 17a-f

Com o intuito de obter os compostos amínicos **17a-f**, optou-se por uma estratégia que envolve condições brandas e eficientes de reduções de oxima utilizando 4 eq. de cianoborohidreto de sódio, 1 eq. de cloreto de molibdênio e 3 eq. de sulfato ácido de sódio hidratado em refluxo de etanol como solvente. A reação de redução da oxima pode ser visualizada no Esquema 31.



Reagentes e condições: a) NaBH₃CN, MoCl₅, NaHSO₄.H₂O, EtOH

Esquema 31 - Reação de redução da oxima para a formação dos compostos amínicos 17a-f

O mecanismo desta etapa envolve em um primeiro momento o ataque do par de elétrons da hidroxila da oxima ao metal gerando um complexo metálico (KOUHKAN; ZEYNIZADEH, 2011). Logo após há o ataque do par de elétrons do nitrogênio ao hidreto para haver a transferência do hidreto. Em seguida, há o ataque do hidreto ao carbono imínico que após a deslocalização dos elétrons é gerado a amina (Esquema 32).



Esquema 32 - Mecanismo de redução da oxima à amina

A Tabela 7 exibe os dados referentes aos compostos amínicos, assim como os respectivos rendimentos e tempos de reação.

Entrada	Amina	Substituinte (R)	Tempo	Rendimento
			(horas)	(%) ^a
1	11	1,4-Br-fenil	3	63
2	17a	1,3-CI-fenil	1,5	65
3	17b	1,4-CI-fenil	2	61
4	17c	1,4- <i>t</i> -Bu-fenil	2	64
5	17d	3,4,5-metóxi-fenil	2,5	64
6	17e	Fenil	2	59
7	17f	Piperonal	2,5	52

Tabela 7 - Rendimento e tempo de reação dos compostos contendo amina 17a-f

^a Os rendimentos são referentes aos produtos isolados e purificados.

A formação dos compostos amino-hidroxilados **17a-f** foi comprovada por espectroscopia de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C.

No espectro no IV nota-se o desaparecimento da banda em 1570-1580 cm⁻¹ referente a ligação C=N da oxima e o aparecimento de uma sinal 3557 cm⁻¹ referente a amina.

No espectro de RMN de ¹H (Figuras 73, 75, 77, 79, 81, 83), observa-se o desaparecimento do singleto referente aos hidrogênios benzílicos em aproximadamente 4 ppm e o aparecimento de dois duplos dubletos na região de 3 ppm referentes aos hidrogênios benzílicos e um multipleto na região de 3,5-4,5 ppm referente ao hidrogênio ligado ao carbono amínico.

No espectro de ¹³C (Figuras 74, 76, 78, 80, 82, 84) nota-se o aparecimento dos sinais em aproximadamente 60 ppm referente ao carbono ligado ao grupamento amina e o desaparecimento dos sinais em aproximadamente 150 ppm referente ao carbono C=N.

5. CONCLUSÕES

Neste trabalho, pode-se preparar o aminoácido bromo-fenilalanina a partir de adutos de MBH com bons rendimentos globais por duas rotas sintéticas distintas e inéditas. A primeira abordagem sintética compreendeu 6 etapas obtendo um rendimento global de 24%. A segunda abordagem sintética compreendeu 4 etapas obtendo o mesmo aminoácido com rendimento global de 46% (Esquema 33).



Esquema 33 – Rendimentos globais das duas rotas sintéticas propostas

Utilizando-se da rota sintética com maior rendimento global, ampliou-se o escopo da metodologia estabelecida para outros adutos de MBH obtendo bons rendimentos globais. A representação dos outros seis aminoácidos gerados a partir de adutos de MBH pode ser visualizada no Esquema 34.



Esquema 34 – Rendimentos globais para os seis aminoácidos 17a-f utilizando-se da segunda abordagem sintética proposta

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. Considerações Gerais

Todos os solventes anidros utilizados nas reações foram tratados previamente, seguindo procedimentos específicos para cada tipo de solvente, imediatamente antes do uso. Os solventes etéreos (éter etílico e tetraidrofurano) foram inicialmente destilados sob hidreto de cálcio e redestilados sob sódio/benzofenona. Os solventes clorados, metanol, acetonitrila anidros utilizados foram destilados sob hidreto de cálcio.

Os aldeídos utilizados nas reações de Morita-Baylis-Hillman são comerciais e foram adquiridos da Aldrich Chemical Company. Os demais reagentes foram obtidos de fornecedores especializados sendo usados sem tratamento prévio. As purificações dos produtos foram realizadas em coluna de sílica gel (70-230 mesh), e o acompanhamento das reações foi realizado por cromatografia de camada delgada (CCD) em cromatoplacas Merck, utilizando solução reveladora de fosfomolibdato de amônio 5% em etanol, vanilina sulfúrica e lâmpada de UV (400-700 nm).

As caracterizações por espectroscopia de RMN de ¹H e RMN de ¹³C foram realizadas nos espectrômetros Bruker 250 MHz para ¹H e 62,5 MHz para ¹³C; Bruker 400 MHz para ¹H e 100,0 MHz para ¹³C; e Varian Inova 500 (500 MHz para ¹H e 125 MHz para ¹³C). (Figura 7) Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm utilizando como padrão interno: Clorofórmio deuterado (CDCl₃), com δ 7,27 ppm para ¹H e δ 77,23 ppm para ¹³C. Benzeno deuterado (CDCl₃), com δ 7,16 ppm para ¹H δ 128,39 ppm para ¹³C. Acetona deuterada (CD₃)₂CO), com δ 2,05 ppm para ¹H e δ 29,92 e 206,68 ppm para ¹³C.



Figura 7 - Equipamento de RMN Bruker 250 MHz

As multiplicidades dos picos de hidrogênio foram indicadas seguindo a convenção: s (simpleto); d (dupleto); dd (duplo dupleto); dd (duplo dupleto de dupleto); t (tripleto); dt (duplo tripleto); sl (simpleto largo); q (quarteto) e m (multipleto).

Os espectros de absorção no infravermelho (IV) (Figura 8) foram obtidos em espectrofotômetro de FT-IR Bomem MB series, modelo B100, com as frequências expressas em cm⁻¹, sendo as amostras aplicadas em uma cela de NaCl ou pastilha de KBr.



Figura 8 - Equipamento de Infravermelho FT-IR Bomem

Os espectros de massa de alta resolução foram obtidos em um aparelho Micromass (Manchester-UK) instrumento Q-Tof de configuração ESI-QqTof com resolução de 5.000 e 50.0 ppm de precisão no analisador de massas TOF.

Os pontos de fusão foram obtidos por meio do aparelho Electrothermal 9100, com um termômetro não aferido.

A nomenclatura dos compostos foram fornecidas pelo programa MarvinSketch 5.5.0.1. e corresponde à nomenclatura oficial da IUPAC.

6.2. Procedimentos experimentais, espectros e dados espectrais

6.2.1. Procedimento de preparação dos adutos de MBH 16 e 21a-f



Em um balão de 100 mL colocou-se o aldeído de partida (20 a 30 mmol) e aproximadamente 20 mL de acrilato de metila (usado como solvente da reação). Posteriormente adicionou-se 0,65 eq. de DABCO sob agitação magnética. Acompanhou-se o avanço da reação por cromatografia em camada delgada (CCD) e viu-se o aparecimento de uma mancha mais polar referente ao aduto. Ao término da

reação evaporou-se o acrilato de metila sob pressão reduzida (o acrilato pode ser recuperado e usado numa próxima reação). Posteriormente, foi feita extração do produto com 50 mL de acetato de etila, lavando-se a fase orgânica com 50 mL de água destilada e 2 vezes com 50 mL de solução saturada de NaCI. A fase orgânica foi combinada, seca sobre sulfato de sódio anidro, filtrada, e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi submetido a purificação em coluna cromatográfica utilizando-se como eluente soluções de acetato de etila/hexano 10% (V:V).

2-[(4-bromofenil)(hidroxi)metil]prop-2-enoato



Tempo reacional: 6 dias; Rendimento: 75% Característica: sólido branco PF: 63-66 °C

IV (KBr, ν_{max}): 3342; 2959; 1717; 1635, 1274, 1160, 812 cm⁻¹.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCl₃),** δ **ppm:** 3,22 (d, *J* = 5,7 Hz, 1H); 3,71 (s, 3H); 5,49 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H); 5,83 (s, 1H); 6,33 (s, 1H); 7,24 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 7,46 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H).

RMN de ¹³C (62,5 MHz, CDCl₃), δ ppm: 52,2; 72,8; 121,9; 126,5; 128,5; 131,7; 140,5; 141,7; 166,8.

2-[(3-clorofenil)(hidroxi)metil]prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 24h; Rendimento: 80%; Característica: óleo incolor

IV (filme, ν_{max}): 3451, 2953, 1717, 1630, 1152, 884 cm⁻¹.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCI₃),** δ **ppm:** 3,25 (d, *J* = 5,8Hz, 1H); 3,72 (s, 3H); 5,51 (d, *J* = 5,7Hz, 1H); 5,84 (s,1H); 6,35 (s, 1H); 7,25 (s, 3H); 7,37 (s, 1H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCI₃), δ ppm:** 52,1; 72,5; 124,9; 126,6; 126,9; 128,0; 129,8; 134,4; 141,6; 143,6; 166,6.



Figura 9 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 16



Figura 10 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCI₃, 62,5 MHz) do composto 16



Figura 11 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 21a



Figura 12 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 21a

2-[(4-clorofenil)(hidroxi)metil]prop-2-enoato



Tempo reacional: 15 dias; Rendimento: 85% Característica: sólido branco

IV (KBr, *v*_{max}): 3342; 2959; 1717; 1635, 1274, 1160, 812 cm⁻¹.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCI₃),** δ **ppm:** 3,61 (s, 3H); 4,89 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H); 5,65 (s, 1H); 6,11 (s, 1H); 6,37(s, 1H); 7,24-7,46 (m, *J* = 8,4 Hz, 4H).

RMN de ¹³C (62,5 MHz, CDCI₃), δ ppm: 52,15; 68,83; 122,75; 127,41; 135,58; 137,44; 140,01; 148,60; 166,58.

2-[(4-tert-butilfenil)(hidroxi)metil]prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 25 dias; Rendimento: 77%; Característica: sólido branco PF: 64-66 °C

IV (KBr, *v*_{max}): 3454, 2962, 2905, 2869, 1723, 1630, 1270, 1149, 1042, 854 cm⁻¹.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCl₃),** δ **ppm:** 1,32 (s, 9H); 3,02 (d, J = 5,5Hz, 1H); 3,73 (s, 3H); 5,56 (d, J = 5,4Hz, 1H); 5,88 (s, 1H); 6,34 (s, 1H); 7,30 (d, J = 8,5Hz, 2H); 7,38 (d, J = 8,5Hz, 2H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCl₃), δ ppm:** 31,5; 34,7; 52,1; 73,2; 125,6; 126,0; 126,5; 138,5; 142,2; 150,9; 167,0.



Figura 13 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 21b


Figura 14 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 21b



Figura 15 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 21c



Figura 16 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 21c

2-[hidroxi(3,4,5-trimetoxifenil)metil]prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 30 dias; **Rendimento:** 71%; **Característica:** óleo fluido amarelado **IV (filme, v_{max}):** 3488, 2942, 2839, 1721, 1593, 1233, 1127 cm⁻¹.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCl₃),** δ **ppm:** 3,21 (d, J = 5,2Hz, 1H); 3,73 (s, 3H); 3,81 (s, 3H); 3,82 (s, 6H); 5,48 (d, J = 4,8Hz, 1H); 5,83 (s, 1H); 6,31 (s, 1H); 6,58 (s, 2H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCl₃), δ ppm:** 52,1; 56,2; 60,9; 73,3; 103,7; 126,2; 137,1; 137,6; 142,1; 153,3; 167,0.

3-[hidroxi(fenil)metil]but-3-en-2-ona



Tempo reacional: 10 dias; **Rendimento:** 62%; **Característica:** óleo levemente castanho **IV (filme,** ν_{max}): 3423, 3063, 3031, 1673, 1192, 841 cm⁻¹

RMN de ¹**H (250 MHz, Acetona-D₆),** δ **ppm:** 2,26 (s, 3H); 4,57 (sl, 1H); 5,66 (s, 1H); 6,19 (s, 1H); 6,27 (s, 1H); 7,18-7,38 (m, 5H).

RMN de ¹³C (62,5 MHz, Acetona-D₆), δ ppm: 26,7; 71,6; 125,0; 127,8; 128,0; 128,9; 144,4; 152,6; 199,3.



Figura 17 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 21d



Figura 18 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 21d



Figura 19 - Espectro de RMN de ¹H (Acetona-D₆, 250 MHz) do composto 21e



Figura 20 - Espectro de RMN de ¹³C (Acetona-D₆, 62,5 MHz) do composto 21e

2-[2H-1,3-benzodioxol-5-il(hidroxi)metil]prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 30 dias; Rendimento: 70%; Característica: óleo incolor.

IV (filme, *v*_{max}): 3457, 1716, 1629, 1502, 1487, 1440, 1246.

RMN de ¹**H (250 MHz; CDCl₃),** δ **ppm:** 3,03 (d, J = 5,1 Hz, 1H); 3,71 (s, 3H); 5,46 (d, J = 4,5Hz, 1H); 5,85 (s, 1H); 5,93 (s, 2H); 6,31 (s, 1H); 6,84 – 6,73 (m, 3H).

RMN de ¹³C (62,5 MHz; CDCl₃), δ ppm: 51,9; 72,9; 101,0; 107,2; 108,1; 120,2; 125,8; 135,3; 142,0; 147,2; 147,7; 166,7.



Figura 21 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 21f



Figura 22 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 21f

6.2.2. Procedimento de preparação dos adutos de MBH acetilados 15 e 20a-f



A um balão contendo 1 g dos adutos 21a-f previamente seco em alto-vácuo, foram adicionados, sob atmosfera de nitrogênio, 5 mol % de DMAP, diclorometano seco (30 mL) e trietilamina (1,3 eq.). O sistema então foi resfriado em banho de gelo, seguido da adição, gota-a-gota, de cloreto de acetila (1,5 eq.). Finalizada a adição, o sistema foi mantido sob agitação à temperatura ambiente até a constatação da estagnação da reação ou consumo total do composto por meio de placas de CCD (cromatografia em camada delgada). Em seguida, o solvente foi evaporado e ao bruto reacional foi adicionada água. A mistura foi então extraída com acetato de etila (3x 20 mL), sendo a fase orgânica posteriormente reunida, lavada com salmoura, seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada sob vácuo. O material obtido foi então purificado por coluna cromatográfica (Hex/Acet 20-30%), fornecendo o aduto acetilado (**20a-f**) correspondente.

2-[(acetiloxi)(4-bromofenil)metil]prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 2,5 horas; Rendimento: 87%; Característica: óleo incolor.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCI₃):** δ 2,09 (s, 3H), 3,71 (s, 3H), 5,88 (s, 1H), 6, 40 (s, 1H), 6,62 (s, 1H), 7,26 (d, 2H), 7,46 (d, 2H).

RMN de ¹³C (62,5 MHz, CDCl₃): δ 20,98; 52,01; 72,45; 122,43; 125,88; 129,38; 131;59; 136,94; 139,18; 165,14; 169,22.

2-[(acetiloxi)(3-clorofenil)metil]prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 2 horas; Rendimento: 92%; Característica: óleo incolor.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCI₃):** δ 2,11 (s, 3H), 3,72 (s, 3H), 5,89 (s, 1H), 6, 42 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 7,27 (s, 3H), 7,35 (s, 1H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCI₃):** δ 21,2; 52,3; 72,6; 126,2; 126,4; 127,8; 129;9; 134,6; 139,4; 140,1; 165,4; 169,4.



Figura 23 - Espectro de RMN de ¹H (CDCI₃, 250 MHz) do composto 15



Figura 24 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCI₃, 62,5 MHz) do composto 15



Figura 25 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 20a



Figura 26 - Espectro de RMN de ¹³C (62,5 MHz, CHCl₃) do composto 20a

2-[(acetiloxi)(4-clorofenil)metil]prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 2 horas; Rendimento: 75%; Característica: óleo incolor.

RMN de ¹H (250 MHz, CDCI₃): δ 2,10 (s, 3H), 3,71 (s, 3H), 5,90 (s, 1H), 6, 40 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 7,27 (s, 3H), 7,31 (s, 1H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCI₃):** δ 21,2; 52,2; 72,6; 126,0; 128,9; 129,3; 134,5; 136,6; 139,5; 165,4; 169,4.



2-[(acetiloxi)(4-tert-butilfenil)metil]prop-2-enoato de metila

Tempo reacional: 2,5 horas; Rendimento: 81%; Característica: óleo incolor.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCI₃):** δ 1,28 (s, 9H), 2,07 (s, 3H), 3,69 (s, 3H), 5,84 (s, 1H), 6,36 (s, 1H), 6,65 (s, 1H), 7,27 (d, 2H, J=8,25 Hz), 7,33 (d, 2H, J= 8,5 Hz).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCl₃):** δ 21,3; 31,5; 34,7; 52,1; 73,1; 125,6; 125,7; 127,6; 134,9; 140,0; 151,5; 165,7; 169,6.



Figura 27 - Espectro de RMN de ¹H (62,5 MHz, CHCl₃) do composto 20b



Figura 28 - Espectro de RMN de ¹³C (62,5 MHz, CHCl₃) do composto 20b



Figura 29 - Espectro de RMN de ¹H (62,5 MHz, CHCl₃) do composto 20c



Figura 30 - Espectro de RMN de ¹³C (62,5 MHz, CHCl₃) do composto 20c

2-[(acetiloxi)(3,4,5-trimetoxifenil)metil]prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 2 horas; Rendimento: 71%; Característica: óleo incolor.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCI₃):** δ 2,15 (s, 3H), 3,75 (s, 3H), 3,89 (s, 9H), 5, 80 (s, 1H), 6,39 (s, 1H), 6,58 (s, 2H), 6,66 (s, 1H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCI₃):** δ 21,09; 52,02; 56,09; 60,73; 73,11; 104,83; 109;33; 125,66; 133,13; 139,50; 153,18; 165,41; 169,39.

2-[(acetiloxi)(fenil)metil]prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 2 horas; Rendimento: 70%; Característica: óleo incolor.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCl₃):** δ 2,07 (s, 3H), 3,36 (s, 3H), 5,83 (s, 1H), 6,37 (s, 1H), 6,67 (s, 1H), 7,24 - 7,37 (m, 5H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCI₃):** δ 21,2; 52,1; 73,3; 125,9; 127,8; 128,5; 128,6; 138,0; 139,9; 165,6; 169,5.



Figura 31 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 20d



Figura 32 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCI₃, 62,5 MHz) do composto 20d



Figura 33 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 20e



Figura 34 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 20e

2-[(acetiloxi)(2H-1,3-benzodioxol-5-il)metil]prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 3 horas; Rendimento: 75%; Característica: óleo incolor.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCl₃):** δ 2,06 (s, 3H), 3,68 (s, 3H), 5,84 (s, 1H), 5,91 (s, 2H), 6,35 (s, 1H), 6,56 (s, 1H), 6,73 (d, 1H, J= 7,85 Hz), 6,82-6,86 (m, 2H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCl₃):** δ 21,2; 52,2; 73,1; 101,4; 108,3; 121,9; 125,5; 131,7; 139,8; 147,8; 147,9; 165,6; 169,5.



Figura 35 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 20f



Figura 36 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCI₃, 62,5 MHz) do composto 20f

6.2.3. Procedimento de preparação dos adutos de MBH 14 e 19a-f após processo de desoxigenação redutiva



O aduto acetilado 20a-f (2 mmol) foi dissolvido em uma mistura de THF/H₂O (4 mL, 3:1). A essa mistura adicionou-se DABCO. A mistura resultante foi agitada por 15 minutos a temperatura ambiente. Em seguida, foi adicionado boroidreto de sódio (2 mmol) à temperatura ambiente e a agitação foi mantida por mais 15 minutos. Logo após, o solvente foi evaporado e ao bruto reacional foi adicionada água destilada. A mistura foi então extraída com acetato de etila (3x 20 mL), sendo a fase orgânica posteriormente reunida, lavada com solução saturada de NaCI, seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada sob vácuo. O material obtido foi então purificado por coluna cromatográfica (Hex/Acet 5-10%), fornecendo o composto (**19a-f**) correspondente.

2-[(4-bromofenil)metil]prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 30 minutos; Rendimento: 94%; Característica: óleo incolor.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCl₃):** δ 3,57 (s, 2H), 3,69 (s, 3H), 5,46 (s, 1H), 6,22 (s, 1H), 7,10 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,22 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCI₃)** *δ ppm*: 37,5, 51,9, 120,2, 126,5, 130,7, 131,4, 137,7, 139,5, 167,0.

2-[(3-clorofenil)metil]prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 30 minutos; Rendimento: 95%; Característica: óleo incolor.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCI₃):** δ 3,59 (s, 2H), 3,72 (s, 3H), 5,49 (s, 1H), 6,25 (s, 1H), 7,06-7,07 (m, 1H), 7,09-7,18 (m, 3H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCl₃)** *δ ppm*: 37,8, 52,0, 126,7, 126,8, 127,3, 129,1, 129,7, 134,2, 139,4, 140,9, 167,1.



Figura 37 - Espectro de RMN de ¹H (CDCI₃, 250 MHz) do composto 14



Figura 38 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCI₃, 62,5 MHz) do composto 14



Figura 39 - Espectro de RMN de ¹H (CDCI₃, 250 MHz) do composto 19a



Figura 40 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 19a

2-[(4-clorofenil)metil]prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 30 minutos; Rendimento: 93%; Característica: óleo incolor.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCI₃):** δ 3,57 (s, 2H), 3,69 (s, 3H), 5,46 (s, 1H), 6,22 (s, 1H), 7,10 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,22 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H).

RMN de ¹³C (62,5 MHz, CDCl₃) δ ppm: 37,3, 51,6, 126,2, 128,3, 130,1, 137,0, 139,5, 166,7.

2-[(4-tert-butilfenil)metil]prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 30 minutos; **Rendimento:** 94%; **Característica:** óleo incolor. **RMN de** ¹**H (250 MHz, CDCI₃):** δ 1,30 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H), 1,35 (s, 9H), 3,64 (s, 2H), 4,23 (q, *J* = 7,1 Hz 2H), 5,49 (s, 1H), 6,26 (s, 1H), 7,17 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,35 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H). **RMN de** ¹³**C (62,5 MHz, CDCI₃)** δ *ppm*: 14,3, 31,5, 34,5, 37,7, 60,8, 125,4, 125,9, 128,8, 135,9, 140,7, 149,2, 167,1.



Figura 41 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 19b



Figura 42 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 19b



Figura 43 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 19c

93



Figura 44 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 19c

2-[(3,4,5-trimetoxifenil)metil]prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 30 minutos; Rendimento: 90%; Característica: óleo incolor.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCI₃):** δ 3,57 (s, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,82 (s, 3H), 3,83 (s, 6H), 5,50 (s, 1H), 6,24 (s, 1H), 6,41 (s, 2H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCl₃)** *δ ppm*: 38,2, 51,7, 55,9, 60,6, 105,8, 126,1, 134,2, 136,4, 139,8, 153,0, 167,1.

2-benzilprop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 30 minutos; Rendimento: 93%; Característica: óleo incolor.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCI₃):** δ 3,67 (s, 2H), 3,75 (s, 3H), 5,49 (s, 1H), 6,27 (s, 1H), 7,22-7,25 (m, 3H), 7,30-7,35 (m, 2H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCI₃)** *δ ppm*: 38,1, 51,9, 126,3, 126,4, 128,5, 129,1, 138,8, 140,2, 167,4.



Figura 45 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 19d



Figura 46 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 19d



Figura 47 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 19e



Figura 48 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCI₃, 62,5 MHz) do composto 19e

2-(2H-1,3-benzodioxol-5-ilmetil)prop-2-enoato de metila



Tempo reacional: 30 minutos; Rendimento: 89%; Característica: óleo incolor.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCl₃):** δ 1,27 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H), 3,54 (s, 2H), 4,17 (q, *J* = 7,1 Hz 2H), 5,45 (d, *J*=1,2 Hz, 1H), 5,91 (s, 2H), 6,21 (s, 1H), 6,59-6,74 (m, 3H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCl₃)** *δ ppm*: 14,3, 37,9, 60,9, 101,0, 108,3, 109,6, 122,1, 125,9, 132,7, 140,7, 146,2, 147,8, 167,0.



Figura 49 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 19f



Figura 50 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 19f

6.2.4. Procedimento de preparação do composto 23



O composto **14** (1 mmol), dissolvido em metanol, sofreu o processo de ozonólise à -78 °C por 20 minutos. Após isso, foi adicionado ao meio reacional 4 eq. borohidreto de sódio à temperatura ambiente e agitação mantida por mais 50 minutos. Em seguida, o solvente foi evaporado. A mistura foi então extraída com acetato de etila (3x 20 mL), sendo a fase orgânica posteriormente reunida, lavada com salmoura, seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada sob vácuo. O material obtido foi então purificado por coluna cromatográfica (Hex/Acet 20%), fornecendo o composto **23**.

Tempo reacional: 30 minutos; Rendimento: 82%; Característica: óleo incolor.

RMN de ¹**H (250 MHz, MeOD)** δ *ppm*: 2,91 (dd, J = 9,0 Hz 1H), 3,09 (dd, J = 9,0 Hz, 1H), 3,79 (s, 3H), 4,45 (t, 1H), 7,09 (d, 2H), 7,42 (d, 2H).

RMN de ¹³C (62,5 MHz, MeOD) *δ ppm*: 39,77; 52,56; 70,89; 120,92; 131,18; 131,47; 135,32; 174,34.



Figura 51 - Espectro de RMN de ¹H (CDCI₃, 250 MHz) do composto 23



Figura 52 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCI₃, 62,5 MHz) do composto 23

6.2.5. Procedimento de preparação do composto 13



3-(4-bromofenil)-2-(tosiloxi)propanoato de metila

O álcool **23** (1 mmol) foi dissolvida em diclorometano anidro e foi adicionado 1,20 eq. de Et_3N , 0,13 eq. de DMAP e 1,20 eq. de p-toluenossulfonila à temperatura ambiente por 4 horas. Em seguida, o solvente foi evaporado e a mistura foi então extraída com acetato de etila (3x 20 mL), sendo a fase orgânica posteriormente reunida, lavada com salmoura, seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada sob vácuo. O material obtido foi então purificado por coluna cromatográfica (Hex/Acet 10%), fornecendo o composto **13**.

Tempo reacional: 3 horas; **Rendimento:** 74%; **Característica:** óleo incolor. **RMN de** ¹**H (250 MHz, MeOD)** *δ ppm*: 2,97 (dd, *J* = 9,0 Hz 1H), 3,10 (dd, *J* = 9,0 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 4,86 (dd, 1H), 6,89 (d, 2H), 7,21 (m, 4H) 7,50 (d, 2H). **RMN de** ¹³**C (62,5 MHz, MeOD)** *δ ppm*: 21,73; 52,93; 72,86; 79,57; 122,77; 127,77; 128,40; 129,71; 131,48; 132,38; 136,81; 145,30; 167,76.



Figura 53 - Espectro de RMN de ¹H (CDCI₃, 250 MHz) do composto 13



Figura 54 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCI₃, 62,5 MHz) do composto 13

6.2.6. Procedimento de preparação do composto 12



O composto tosilado **13** (1 mmol) foi dissolvido em DMSO e, posteriormente, foi adicionado 1,2 eq. de NaN₃ aumentando a temperatura do sistema para 45 °C por 120 minutos. Em seguida, o solvente foi evaporado e a mistura foi então extraída com acetato de etila (3x 20 mL), sendo a fase orgânica posteriormente reunida, lavada com salmoura, seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada sob vácuo. O material obtido foi então purificado por coluna cromatográfica (Hex/Acet 25%), fornecendo o composto **12**.

Tempo reacional: 2 horas; Rendimento: 61%; Característica: óleo incolor.

RMN de ¹**H (250 MHz, MeOD)** *δ ppm*: 2,96 (dd, *J* = 9,0 Hz 1H), 3,13 (dd, *J* = 9,0 Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 4,09 (m, 1H), 7,10 (d, 2H), 7,45 (d, 2H).

RMN de ¹³C (62,5 MHz, MeOD) δ *ppm*: 52,64; 107,81; 120,33; 129,76; 131,88; 132,60; 135,12; 166,02.

2-azido-3-(4-bromofenil)propanoato de metila



Figura 55 - Espectro de RMN de ¹H (CDCI₃, 250 MHz) do composto 12



Figura 56 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCI₃, 62,5 MHz) do composto 12

6.2.7. Procedimento de preparação do composto 11



2-amino-3-(4-bromofenil)propanoato de metila

A azida **12** (1 mmol) foi dissolvida em acetonitrila e, em seguida, foi adicionado ao meio reacional 9 eq. de lodeto de sódio e 1,5 eq. de cloreto de ferro (III) à temperatura ambiente por 60 minutos. Em seguida, o solvente foi evaporado e a mistura foi então extraída com acetato de etila (3x 20 mL), sendo a fase orgânica posteriormente reunida, lavada com salmoura, seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada sob vácuo. O material obtido foi então purificado por coluna cromatográfica (Hex/Acet 20%), fornecendo o composto **11**.

Tempo reacional: 60 minutos; **Rendimento:** 63%; **Característica:** sólido branco. **IR (filme,** ν_{max}): 3500-3050, 1736, 1679, 1488, 1011, 801 cm⁻¹. **RMN de** ¹**H (250 MHz, CDCI₃)** δ *ppm*: 2,85-2,97 (dd, J = 6,6 Hz, 1H), 3,02-3,14 (dd, J = 4,2Hz, 1H), 4,36-4,49 (m, 1H), 7,05-7,14 (dd, J = 8,3 Hz, 2H), 7,38-7,45 (dd, J = 8,3 Hz, 2H). **RMN de** ¹³**C (62,5 MHz, CDCI₃)** δ *ppm*: 34,9, 53,5, 59,1, 122,7, 130,8, 131,6, 132,7, 170,2.





Figura 57 - Espectro de RMN de ¹H (CDCI₃, 250 MHz) do composto 11



Figura 58 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCI₃, 62,5 MHz) do composto 11
6.2.8. Procedimento de preparação das oximas 18a-g



Os adutos **19a-f** (1 mmol), dissolvido em metanol, sofreu o processo de ozonólise à -78 °C por 15-30 minutos. Após isso, foi adicionado cloridrato de hidroxilamina (4 mmol) e piridina (1 mmol) à temperatura ambiente e agitação mantida por mais 50 minutos. Em seguida, o solvente foi evaporado. A mistura foi então extraída com acetato de etila (3x 20 mL), sendo a fase orgânica posteriormente reunida, lavada com salmoura, seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada sob vácuo. O material obtido foi então purificado por coluna cromatográfica (Hex/Acet 20%), fornecendo o composto (**18a-g**) correspondente.

(2Z)-3-(4-bromofenil)-2-(N-hidroximino)propanoato de metila



Tempo reacional: 70 minutos; **Rendimento:** 90%; **Característica:** óleo incolor. **RMN de** ¹**H (250 MHz, CDCI₃):** δ 3,76 (s, 3H), 3,90 (s, 2H), 7,13-7,19 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 7,31-7,36 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H).

RMN de ¹³C (62,5 MHz, CDCl₃) δ ppm: 30,0, 52,7, 120,4, 130,9, 131,5, 134,9, 150,1, 163,9.





Tempo reacional: 65 minutos; Rendimento: 95%; Característica: sólido branco.

RMN de ¹H (250 MHz, CDCI₃): δ 3,84 (s, 3H), 3,97 (s, 2H), 7,28-7,35 (m, 3H), 7,67-7,76 (m, 1H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCl₃)** *δ ppm*: 30,1, 52,8, 126,9, 127,3, 129,2, 129,7, 134,2, 137,5, 150,2, 163,6.



Figura 59 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 18a



Figura 60 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCI₃, 62,5 MHz) do composto 18a



Figura 61 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 18b



Figura 62 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 18b

3-(4-clorofenil)-2-(N-hidroximino)-ácido propanoico



Tempo reacional: 70 minutos; Rendimento: 91%; Característica: sólido branco. RMN de ¹H (250 MHz, CDCl₃): δ 3,89 (s, 2H), 7,19-7,29 (m, 4H). RMN de ¹³C (62,5 MHz, MeOD) *δ ppm*: 28,2, 127,9, 130,3, 131,7, 135,2, 150,8, 162,4.

3-(4-tert-butilfenil)-2-(N-hidroximino)-ácido propanoico



Tempo reacional: 80 minutos; Rendimento: 94%; Característica: sólido branco.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCl**₃): δ 1,27 (s, 9H), 3,88 (s, 2H), 7,17 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,26 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H).

RMN de ¹³C (62,5 MHz, MeOD) *δ ppm*: 28,2, 30,3, 33,7, 124,4, 129,0, 134,7, 148,7, 153,7, 162,8.



Figura 63 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 18c



Figura 64 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 18c



Figura 65 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 18d



Figura 66 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCI₃, 62,5 MHz) do composto 18d

2-(N-hidroximino)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)propanoato de metila



Tempo reacional: 80 minutos; Rendimento: 94%; Característica: sólido amarelado. RMN de ¹H (250 MHz, CDCl₃): δ 3,80 (s, 9H), 3,86 (s, 3H), 6,54 (s, 2H), 7,26 (s, 2H). RMN de ¹³C (62,5 MHz, CDCl₃) *δ ppm*: 29,5, 56,1, 60,8, 106,6, 131,1, 136,7, 151,7, 153,0, 161,6. 2-(N-hidroximino)-3-fenil)propanoato de metila



Tempo reacional: 65 minutos; Rendimento: 92%; Característica: sólido branco.

RMN de ¹H (250 MHz, CDCI₃): δ 3,82 (s, 3H), 4,00 (s, 2H), 7,22-7,25 (m, 3H), 7,30-7,35 (m, 2H).

RMN de ¹³C (62,5 MHz, CDCl₃) δ ppm: 30,5, 52,7, 126,6, 128,5, 129,1, 135,6, 150,9, 163,8.



Figura 67 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 18e



Figura 68 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 18e



Figura 69 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 18f



Figura 70 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 18f

(2Z)-3-(2H-1,3-benzodioxol-5-il)-2-(N-hidroximino)propanoato de metila



Tempo reacional: 80 minutos; Rendimento: 88%; Característica: sólido branco.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCl₃):** δ 1,33 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H), 3,89 (s, 2H), 4,29 (q, *J* = 7,1 Hz 2H), 5,91 (s, 2H), 6,76-6,82 (m, 2H), 7,26 (s, 1H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCl₃)** *δ ppm*: 14,0, 30,0, 61,9, 100,8, 108,2, 109,7, 122,2, 129,2, 146,2, 147,6, 151,3, 163,2.



Figura 71 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 18g



Figura 72 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 18g

6.2.9. Procedimento de preparação das aminas 17a-f



A oxima (1 mmol) foi dissolvida em etanol e adicionada, gota a gota, a uma mistura de 4 mmol de cianobohidreto de sódio, 1 mmol de cloreto de molibdênio e 3 mmol de sulfato ácido de sódio hidratado em refluxo de etanol por 60 minutos. Em seguida, foi adicionado 3 gotas de solução concentrada de NH₄Cl, o solvente foi evaporado e a mistura foi então extraída com acetato de etila (3x 20 mL), sendo a fase orgânica posteriormente reunida, lavada com salmoura, seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada sob vácuo. O material obtido foi então purificado por coluna cromatográfica (Hex/Acet 50%), fornecendo o composto (**17a-f**) correspondente.

2-amino-3-(3-clorofenil)ácido propanoico



Tempo reacional: 1,5 horas; Rendimento: 65%; Característica: sólido branco.

IR (filme, v_{max}): 3400-3100, 1740, 1475, 1081 cm⁻¹.

RMN de ¹**H (250 MHz, MeOD)** *δ ppm*: 2,77-2,87 (m, 1H), 3,03-3,12 (m, 1H), 4,17-4,22 (m, 1H), 7,19-7,31 (m, 4H).

RMN de ¹³C (62,5 MHz, MeOD) *δ ppm*: 39,8, 72,0, 126,0, 127,7, 129,1, 129,3, 133,4, 140,2, 177,8.



Figura 73 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 17a



Figura 74 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 17a

2-amino-3-(4-clorofenil)ácido propanoico



Tempo reacional: 2 horas; Rendimento: 61%; Característica: sólido branco. IR (filme, ν_{max}): 3500-3080, 1690, 1491, 1092 cm⁻¹. RMN de ¹H (250 MHz, MeOD) δ ppm: 2,89-3,00 (m, 1H), 3,09-3,18 (dd, J = 5,0 Hz, 1H), 3,54-3,64 (m, J = 5,0 Hz, 1H), 7,19-7,24 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 7,27-7,32 (d, J = 8,4 Hz, 2H). RMN de ¹³C (62,5 MHz, MeOD) δ ppm: 37,0, 59,9, 128,3, 130,7, 132,7, 134,2, 171,1.

2-amino-3-(4-tert-butilfenil)ácido propanoico



Tempo reacional: 2 horas; Rendimento: 64%; Característica: sólido branco.

IR (filme, v_{max}): 3500-3050, 1685, 1177, 1035, 833 cm⁻¹.

RMN de ¹**H (250 MHz, MeOD)** δ *ppm*: 1,19 (s, 9H), 2,83-2,88 (dd, J = 9,0 Hz, 1H), 2,97-3,02 (dd, J = 5,4 Hz, 1H), 3,48-3,51 (m, 1H), (dd, J = 8,3 Hz, 4H).

RMN de ¹³C (62,5 MHz, MeOD) *δ ppm*: 30,3, 33,8, 37,3, 60,1, 125,2, 128,7, 132,2, 149,8, 172,1.



Figura 75 - Espectro de RMN de ¹H (MeOD, 250 MHz) do composto 17b



Figura 76 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 17b



Figura 77 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 17c



Figura 78 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 17c



2-amino-3-(3,4,5-trimetoxifenil)propanoato de metila

Tempo reacional: 2,5 horas; Rendimento: 64%; Característica: sólido branco.

IR (filme, *v*_{max}): 3500-3200, 1739, 1592, 1126, 1001 cm⁻¹.

RMN de ¹**H (250 MHz, MeOD)** δ *ppm*: 2,70-2,84 (m, 1H), 2,99-3,08 (dd, J = 3,68 Hz, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,82 (s, 6H), 4,04-4,14 (q, J = 7,25 Hz, 3H), 4,16-4,23 (m, 1H), 6,58 (s, 1H). **RMN de** ¹³**C (62,5 MHz, MeOD)** δ *ppm*: 15,4, 21,8, 43,0, 57,5, 62,5, 108,9, 136,4, 138,6, 155,1, 174,0.

2-amino-3-fenilpropanoato de metila



Tempo reacional: 2 horas; **Rendimento:** 59%; **Característica:** sólido branco. **IR (filme,** v_{max}): 3500-3100, 2954, 1741, 1668, 1496, 1464, 1289, 1024, 701 cm⁻¹. **RMN de** ¹**H (250 MHz, CDCI₃)** δ *ppm*: 3,18-3,28 (dd, J = 5,3 Hz 1H), 3,31-3,40 (dd, J = 5,1Hz 1H), 3,88 (s, 3H), 3,92-4,00 (m, 1H), 7,11-7,19 (m, 2H), 7,32-7,42 (m, 3H). **RMN de** ¹³**C (62,5 MHz, CDCI₃)** δ *ppm*: 35,3, 53,4, 59,2, 128,6, 129,1, 129,7, 132,4, 170,4.



Figura 79 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 17d



Figura 80 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 17d



Figura 81 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 17e



Figura 82 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 17e



2-amino-3-(2H-1,3-benzodioxol-5-il)propanoato de etila

Tempo reacional: 2,5 horas; Rendimento: 52%; Característica: sólido branco.

IR (filme, *v*_{max}): 3500-3030, 1743, 1503, 1492, 1248, 1037, 927 cm⁻¹.

RMN de ¹**H (250 MHz, CDCI₃)** δ *ppm*: 1,36 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 3,09-3,32 (dd, J = 5,0 Hz, 2H), 3,87 (t, J = 5,0 Hz 1H), 4,28-4,39 (dd, J = 7,1 Hz, 2H), 5,98 (s, 2H), 6,59-6,66 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,76-6,82 (d, J = 7,6 Hz, 2H).

RMN de ¹³**C (62,5 MHz, CDCl₃)** *δ ppm*: 14,0, 34,8, 59,2, 63,1, 101,4, 109,1, 122,6, 125,7, 147,9, 148,8, 170,3, 189,6.



Figura 83 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) do composto 17f



Figura 84 - Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do composto 17f

REFERÊNCIAS

ABRAMS, S. Using stable isotope to assess mineral absorption and utilization by children. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 70, p. 955-964, 1999.

ADAMSON, C.; KANU, O. O.; MEHTA, A.; DI, C.; LIN, N.; MATTOX, A. K.; BIGNER, D. Glioblastoma multiforme: a review of where we have been and where we are going. **Expert Opinion on Investigational Drugs,** London, v. 18, n. 8, p. 1061-1083, 2009.

AGGARWAL, V.; FULFORD, S.; LLOYD-JONES. G. Reevaluation of the Mechanism of the Baylis-Hillman Reaction: Implications for Asymmetric Catalysis. **Angewandte Chemie. International Edition in English**, New York, v. 44, p. 1706-1708, 2005.

AMARANTE, G. W.; MILAGRE, H.; VAZ, B.; FERREIRA, B. R. V.; EBERLIN, M. N.; COELHO, F. Dualistic nature of the mechanism of the Morita-Baylis-hillman reaction probed by eletrospray ionization mass spectrometry. **The Journal of Organic Chemistry**, Baltimore, v. 74, p. 3031-3037, 2009.

ANTON, K.; BAEHRING, J. M.; MAYER, T. Glioblastoma multiforme: overview of current treatment and future perspectives. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, Philadelphia, v. 26, n. 4, p. 825-853, 2012.

ASHTON, P. R.; HARRIS, K. D. M.; KARIUKI, B. M.; PHILP, D.; ROBINSON, J. M. A.; SPENCER, N. A borazaaromatic analogue of isophthalic acid. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, London, v. 0, p. 2166-2173, 2001

AUFFINGER, B.; THACI, B.; NIGAM, P.; RINCON, E.; CHENG, Y.; LESNIAK, M. S. New therapeutic approaches for malignant glioma: in search of the Rosetta stone. **F1000 Medicine Reports**, London, v. 4, n. 18, p. 1-6, 2012.

BARKER, A. C.; CHANG, M.; CHOU, J. F.; ZHANG, Z.; BEAL, K.; GUTIN, P. H.; IWAMOTO, F. M. Radiotherapy and concomitant temozolomide may improve survival of elderly patients with glioblastoma. **Journal of Neuro Oncology**, Heidelberg, v. 109, p. 391-397, 2012.

BARNES, R. M. Advances in inductively coupled plasma mass spectrometry: human nutrition and toxicology. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 283, p. 115-130, 1993.

BARTH, R. F.; CODERRE, J. A.; VICENTE, M. G. H.; BLUE, T. E. Boron neutron capture therapy of cancer: current status and future prospects. **Clinical Cancer Research**, Philadelphia, v. 11, n. 11, p. 3987-4002, 2005.

BARTH, R. F.; VICENTE, M. G. H.; HARLING, O. K.; KIGER III, W. S.; RILEY, K. J.; BINNS, P. J.; WAGNER, F. M.; SUZUKI, M.; AIHARA, T.; KATO, I.; KAWABATA, S. Current status of boron neutron capture therapy of high grade gliomas and recurrent head and neck cancer. **Radiation Oncology**, London, v. 7, n. 146, p. 1-21, 2012. BARTOLI, G.; DI ANTONIO, G.; GIOVANNINI, R.; GIULI, S.; LANARI, S.; PAOLETTI, M.; MARCANTONI, E. Efficient transformation of azides to primary amines using the mild and easily accessible CeCl₃·7H₂O/Nal system. **The Journal of Organic Chemistry**, Baltimore, v. 73, p. 1919-1924, 2008.

BASILE FILHO, A.; MARCHINI, J. S. O. Uso de isótopos estáveis no estudo da cinética proteica em medicina intensiva. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 3, p. 192-197, 2004.

BEDDOE, A. H. Boron neutron capture therapy. **The British Journal of Radiology**, London, v. 70, p. 665-667, 1997.

BELLATO, A. C.; MENEGÁRIO, A. A.; GINÉ, M. F. Boron Isotope Dilution in Cellular Fractions of Coffee Leaves Evaluated by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry with Direct Injection Nebulization (DIN-ICP-MS). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 269-273, 2003.

BENDASSOLLI, J. A.; TRIVELIN, P. C. O.; IGNOTO, R. F. Produção de amônia anidra de aquamônia enriquecida em 15N a partir de (15NH4)2SO4. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 3, p. 595-603, 2002.

BENDASSOLLI, J. A.; TRIVELIN, P. C. O.; MORTATTI, J.; VICTORIA, R. L. Síntese de fertilizantes nitrogenados enriquecidos em 15N. Parte I: síntese de NH3 anidra enriquecida em 15N. **Energia Nuclear e Agricultura**, Piracicaba, v. 9, n. 2, p. 66-93, 1988.

BENDASSOLLI, J. A.; TRIVELIN, P. C. O.; MORTATTI, J.; VICTORIA, R. L. Síntese de fertilizantes nitrogenados enriquecidos em 15N. Parte II: síntese de ureia enriquecida em 15N. Energia Nuclear e Agricultura, Piracicaba, v. 9, n. 2, p. 94-116, 1989.

BIEVRE, P. D.; BARNES, I. L. Table of the isotopic composition of the elements as determined by mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry and Ion Process**, Amsterdam, v. 65, p. 211-230, 1985.

BOS, C.; BENAMOUZING, R.; BRUHAT, A.; ROUXE, C.; MAHÉ, S.; VALENSI, P.; GAUDICHON, C.; FERRIERI, F.; RAUTUREAU, J.; TOME, D. Short-term protein and energy supplementation activates nitrogen kinetics and accretion in poorly nourished elderly subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 71, n. 5, p. 1129-1237, 2000.

CAMMIDGE, A. N.; GODDARD, V. H. M.; GOPEE, H.; HARRISON, N. L.; HUGHES, D. L.; SCHUBERT, C. J.; SUTTON, B. M.; WATTS, G. L.; WHITEHEAD, A. J. Aryl Trihydroxyborates: easily isolated discrete species convenient for direct application in coupling reactions. **Organic Letters**, Washington, DC, v. 8, n. 18, p. 4071-4074, 2006.

CAPALA, J.; STENSTAM, B. H.; SKOLD, K.; MUNCK AF ROSENSCHOLD, P.; GIUSTI, V.; PERSSON, C.; BRUN, A.; FRANZEN, L.; CARLSSON, J. Boron neutral capture therapy for glioblastoma multiforme: clinical studies in Sweden. **Journal of Neuro Oncology**, Heidelberg, v. 62, p. 135-144, 2003.

CARNEIRO JUNIOR, F.; BENDASSOLLI, J. A.; MORTATTI, J.; TRIVELLLIN, P. C. O.; VICTÓRIA, R. L. Separação dos Isótopos de Boro em Colunas de Resina de Troca Aniônica. Enriquecimento Isotópico de ¹⁰B. **Química Nova**, Piracicaba, v. 17, n. 5, p. 446-450, 1994.

CASTRO, A. P. W.; GOMES, A. T. B.; PADOVAN, G. J.; OLIVEIRA, R.B.; MARQUINI, J. S. Urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori* using stable isotope (¹³C). Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, Rio de Janeiro, v. 40, n. 2, p. 63-67, 2004.

CHEVALIER, S.; GOUGEON, R.; NAYAR, K.; MORAIS, J. A. Frailty amplifies the effects of aging on protein metabolism: role of protein intake. **American Journal of Clinical Nutrition,** Bethesda, v. 78, p. 422-429, 2003.

CHRISTOPH, G.; HEYBEY, J.; SCHUTZE, H.; WEISE, G.; WETZEL, K. Theoretical and experimental investigations for enrichment of boron-10 by ion-exchange chromatography. **Isotopenpraxis Isotopes in Environmental and Health Studies**, Tokyo, v. 12, n. 1, p. 17-21, 1976.

COELHO, F.; ALMEIDA, W. P. The Baylis-Hillman reaction: A strategy for the preparation of multi-functionalised intermediates for organic synthesis. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, p. 98-101, 2000.

COLLIER, T.; SARKAR, P.; RAO, B.; MUDDIMAN, D. C. Quantitative top-down proteomics of SILAC labeled human embryonic stem cells. **Journal of American Society of Mass Spectrometry,** New York, v. 21, p. 879-889, 2010.

CORREIA, J. T. M.; RODRIGUES JUNIOR, M. T.; SANTOS, H.; TORMENA, C. F.; COELHO, F. Heterocycles from Morita-Baylis-Hillman adducts: synthesis of 5oxopyrazolidines, arylidene-5-oxopyrazolidines, and oxo-2,5-dihydro-pyrazols. **Tetrahedron**, London, v. 69, p. 826-832, 2013.

CORREIA, P. Helicobacter pylori and gastric cancer: state of the art. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, Denville, v. 5, p. 477-481, 1996.

CRIEGGE, R. Mechanism of Ozonolysis. **Angewandte Chemie. International Edition in English**, New York, v. 14, p. 745-752, 1975.

DIAZ, A. Z. Assessment of the results from the phase I/II boron eutron capture therapy trials at the Brookhaven National Laboratory from a clinician's point of view. **Journal of Neuro Oncology**, Heidelberg, v. 62, p. 101-109, 2003.

DREWES, S.; ROSS, G. Synthetic potential of the tertiary-amine-catalysed reaction of activated vinyl carbanions with aldehydes, **Tetrahedron**, London, v. 44, n. 15, p. 4653-4670, 1988.

FERRAZ, M. L.; LIMA, M. F.; REBER, M.; LAMONICA, R.; TOMISHIGUE, T. Teste respiratório com ¹³C-Uréia na detecção do Helicobacter pylori. **NewsLab**, Chevy Chase, MD, ed. 27, 1998.

FORT, Y.; BERTH, M.; CAUBERE, P. The Baylis-Hillman Reaction: mechanism and applications revisited. **Tetrahedron**, London, v. 48, p. 6371-6384, 1992.

GRAHAM, D. Y. Evolution of concepts regarding Helicobacter pylori: from a cause of gastritis to a public health problem. **American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 89, p. 469-472, 1994.

HARKNESS, L.; PROKHOROVA, T. A.; KASSEM, M.; BLAGOEV, B. Stable isotope labelling with amino acids in cell culture for human embryonic stem cell proteomic analysis. **Methods in Molecular Biology**, Clifton, v. 873, p. 297-305, 2012.

HATTORI, Y.; YAMAMOTO, H.; ANDO, H.; KINDOH, H.; ASANO, T.; KIRIHATA, M.; YAMAGUCHI, Y.; WALAMIYA, T. Synthesis and evaluation as MRI probe of the trifluoromethylated p-boronophenylalanine and its alcohol derivative. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 15, p. 2198-2205, 2007.

HILL, J. S.; ISAACS, N. S. Mechanism of a-substitution reactions of acrylic derivatives. **Journal of Physical Organic Chemistry**, Chichester, v. 3, p. 285-288, 1990.

HOFMANN, H. M. R.; RABE, J. Preparation of 2-(I-Hydroxyalkyl) acrylic esters; Simple Three-Step Synthesis of mikanecic acid. **Angewandte Chemie.** International Edition in English, New York, v. 22, n. 10, p. 795-796, 1983.

IM, Y. J.; KIM, J. M.; MUN, J. H.; KIM, J. N. A Convenient Synthesis of 2-Methylenealkanoates and Alkanenitriles from the Acetates of the Baylis-Hillman Adducts. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, Seoul, v. 22, n. 4, p. 349-350, 2001

ISHIYAMA, T.; MURATA, M.; MIYAURA, N. Palladium(0)-Catalyzed cross-coupling reaction of alkoxydiboron with haloarenes: A direct procedure for arylboronic esters. **Journal of Organic Chemistry,** Baltimore, v. 60, p. 7508-7510, 1995.

ITOH, S.; AIDA, M.; OKAMOTO, M.; NOMURA, M.; FUJII, Y.; MAEDA, M. Boron Isotope Separation by Ion Exchange Chromatography Using Weakly Basic Anion Exchange Resin. **Isotopenpraxis Isotopes in Environmental and Health Studies**, Tokyo, v. 21, n. 6, p. 204-208, 1985.

IYENGAR, V. Nuclear and isotopic techniques for addressing nutritional problems, with special reference to current applications in developing countries. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v. 2, n. 1, p. 3-10, 2002.

JOENSUU, H.; KANKAANRANTA, L.; SEPPALA, T. et al. Boron neutron capture therapy of brains tumors: clinical trials at the Finnish facility using boronophenylalanine. **Journal of Neuro Oncology**, Heidelberg, v. 62, p. 123-134, 2003.

JUNQUEIRA-FRANCO, M. V. M.; VANNUCCHI, H.; FERRIOLLI, E.; PADOVAN, G. J.; MARCHINI, J. S. Aplicações clínicas de isótopos estáveis-utilização da técnica de espectrometria de massa. **Cadernos de Nutrição**, São Paulo, v. 18, p. 35-54, 1999.

KAMAL, A.; RAMANA, K. V.; ANKATI H. B.; RAMANA A. V. Mild and efficient reduction of azides to amines: synthesis of fused [2,1-b] quinazolinones **Tetrahedron Letters**, Oxford, v. 43, p. 6861-6863, 2002.

KANKAANRANTA, L.; SEPPALA, T.; KOIVUNORO, H.; VALIMAKI, P.; BEULE, A.; COLLAN, J.; KORTESNIEMI, M.; UUSI-SIMOLA, J.; KOTILUOTO, P.; AUTERINEN, I. L-boronophenylalanine-mediated boron neutron capture therapy for malignant glioma progressing after external beam radiation therapy: a Phase I study. International Journal of Radiation Oncology Biology Physics, New York, v. 80, p. 369-376, 2011.

KAWABARA, S.; MIYATAKE, S.; HIRAMATSU, R.; HIROTA, Y.; MIYATA, S.; TAKEKITA, Y.; KUROIWA, T.; KIRIHATA, M.; SAKURAI, Y.; MARUHASHI, A.; ONO, K. Phase II clinical study of boron neutron capture therapy combined with X-ray readiotherapy/temozolomide in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme-study design and current status report. **Applied Radiation and Isotopes**, Oxford, v. 69, p. 1796-1799, 2011.

KEREN, R.; BINGHAM, F. T.; RHOADES, J. D. Plant uptake of boron as affected by boron distribution between liquid and solid-phases in soil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 49, p. 297-302, 1985.

KINUTA, H.; KITA, Y.; RÉMOND, E.; TOBISU, M.; CHATANI, N. Novel synthetic approach to arylboronates *via* rhodium-catalyzed carbon-cyano bond cleavage of nitriles. **Synthesis**, Stuttgart, v. 44, n. 19, p. 2999-3002, 2012.

KIRIHARA, M.; MORIMOTO, T.; ICHIMOTO, I. A simple and improved synthesis of p-boronophenylalanine, a boron carrier for the boron-neutron capture therapy. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 57, n. 11, p. 1940-1941, 1993.

KOUHKAN, M.; ZEYNIZADEH, B. A new and convenient method for reduction of oximes to amines with nabh₃cn in the presence of $MoCl_5/NaHSO_4 \cdot H_2O$ system. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, Seoul, v. 32, n. 9, p. 3323-3326, 2011.

KREBS, N. F.; MILLER, L. V.; NAAKE, V. L.; LEI, S.; WESTCOTT, J. E.; FENESSEY, P. V.; HAMBIDGE, M. The use of stable isotope techniques to assess zinc metabolism. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 6, n. 6, p. 292-301, 1995.

KRONBERGER, H.; NETTLEY, P. T. The production of Boron-10 by low temperature distillation. **Angewandte Chemie. International Edition**, Weinheim, v. 69, p. 566, 1957.

LEERMANN, T.; LEROUX, F. R.; COLOBERT, F. Highly efficient one-pot access to functionalized arylboronic acids *via* noncryogenic bromine/magnesium exchanges. **Organic Letters,** Washington, DC, v. 13, n. 17, p. 4479-4481 2011.

MAKISHIMA, S.; YONEDA, Y.; TAJIMA, T. The viscosity and thermal stability of vapour of trimethyl borate. **The Journal of Physical Chemistry**, Tokyo, v. 61, n. 12, p. 1618-1619, 1957.

MALAN, C.; MORIN, C. A concise preparation of 4-Borono-L-phenylalanine (L-BPA) from L-Phenylalanine. **The Journal of Organic Chemistry**, Baltimore, v. 63, p. 8019-8020, 1998.

MAXIMO, E.; BENDASSOLLI, J. A.; TRIVELIN, P. C. O.; ROSSETE, A. L. R. M.; OLIVEIRA, C. R.; PRESTES, C. V. Produção de sulfato de amônio duplamente marcado com isótopos estáveis de 15N e 34S. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 211-216, 2005.

MAXIMO, E.; SANT'ANA FILHO, C. R.; TRIVELIN, P. C. O.; BENDASSOLLI, J. A. Isotope separation of nitrogen by ion exchange chromatography in a cascade system. **Solvent Extraction and Ion Exchange**, London, v. 31, 2013. Disponível em: http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/07366299.2013.810912.

MURATA, M.; WATANABE, S.; MASUDA, Y. Novel Palladium(0)-Catalyzed coupling reaction of dialkoxyborane with aryl halides: convenient synthetic route to arylboronates. **The Journal of Organic Chemistry**, Baltimore, v. 62, p. 6458-6459, 1997.

MUSASHI, M.; MATSUO, M.; OI, T.; NOMURA, M. An anion-exchange chromatographic study on boron isotopic fractionation at 2 MPa at 293K. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1131, p. 97-102, 2006.

NAKAMURA, H.; FUJIWARA, M.; YAMAMOTO, Y. A Practical method for the synthesis of enantiomerically pure 4-Borono-L-phenylalanine. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, Sendai, v. 73, p. 231-235, 2000.

NAKAO, H.; MORIMOTO, T.; KIRIHATA, M. Asymmetric synthesis of optically pure lp- boronophenylalanine by a hybrid process. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 60, n. 4, p. 683-684, 1996.

NEWNHAM, A.; QUINN, M. J.; BABB, P.; KANG, J. Y.; MAJEED, A. Trends in the subside and morphology of esophageal and gastric cancer in England and Wales 1971-98. Alimentary Pharmacology and Therapeutics, New York, v. 17, p. 665-676, 2003.

NIE, G.; XU, J.; ZHANG, S.; HAN, X. Electrodeposition of high-quality polycarbazole films in composite electrolytes of boron trifluoride diethyl etherate and ethyl ether. **Journal of Applied Electrochemistry**, Dordrecht, v. 36, p. 937-944, 2006.

O'CONNELL, D. P.; LEBLANC, D. F.; CROMLEY, D.; BILLHEIMER, J.; RADER, D. J.; BACHOVCHIN, W. W. Design and synthesis of boronic acid inhibitors of endothelial lipase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,** Oxford, v. 22, p. 1397-1401, 2012.

OLIVEIRA, C. R. **Síntese de alanina e glicina com elevado enriquecimento no isótopo** ¹⁵**N**. 2001. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

ONG, S.; BLAGOEV, B.; KRATCHMAROVAT, I.; KRISTENSEN, D. B.; STEEN, H.; PANDEY, A.; MANN, M. Stable isotope labeling by amino acids in cell culture, silac, as a simple and accurate approach to expression proteomics. **Molecular & Cellular Proteomics**, Bethesda, v. 1, n. 5, p. 376-386, 2002.

PALKO, A. A.; BERGUN, G. M.; LANDAU, L. Equilibrium Constant for Boron Isotope Exchange between BF^3 and BF^3 -O(CH³)². The Journal of Chemical Physics, Lancaster, v. 37, p. 552-555, 1962.

PFRIMER, K. Avaliação do metabolismo protéico em idosos brasileiros independentes utilizando a glicina marcada com ¹⁵N. 2006. 105 p. Dissertação (Mestrado em Investigação Biomédica) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

PILAY, J.; BRABER, I.; VRISEKOOP, N.; KWAST, L, M.; DE BOER, R. J.; BORGHANS, J. A. M.; TESSELAAR, K.; KOENDERMAN, L. In vivo labelling with 2 H₂O reveals a human neutrophil lifespan of 5.4 days. **Blood. Journal of Hematology**, New York, v. 116, n. 4, p. 625-627, 2010.

PRICE, K.; BROADWATER, S.; WALKER, B.; MCQUADE, D. A New interpretation of the Baylis-Hillman mechanism. **The Journal of Organic Chemistry**, Baltimore, v. 70, p. 3980-3987, 2005.

PRINS, J. M.; WANG, Y. Quantitative proteomic analysis revealed n'nitrosonornicotine-induced down-regulation of nonmuscle myosin ii and reduced cell migration in cultured human skin fibroblast cells. **Journal of Proteome Research**, Washington, DC, v. 12, p. 1282-1288, 2013.

RITSON, D. J.; COX, R. J.; BERGE, J. Indium mediated allylation of glyoxylate oxime ethers, esters and cyanoformates. **Organic & Biomolecular Chemistry**, Cambridge, v. 2, p. 1921-1933, 2004.

ROSSET, R.; CHEMLA, M.; TREMILLON, B.; LABROUSSE, H.; FOULD, H.; HURE, J. Separation des isotopes du bore a laide de resins echangeuses danions. **Bulletin de la Societe Chimique de France**, Paris, n. 3, p. 607-611, 1964.

SAH, R. N.; BROWN, P. H. Boron determination - A review of analytical methods. **Microchemical Journal**, New York, v. 56, p. 285-304, 1997.

SAKUMA, Y.; AIDA, M.; OKAMOTO, M.; KAKIHAMA, H. Boron Isotope Separation by Ion Exchange Chromatography Using Weakly Basic Anion Exchange Resin. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, Tokyo, v. 53, n. 7, p. 1860-1863, 1980.

SANT'ANA FILHO, C. R.; TAVARES, C. R. O.; FERREIRA, A. V.; PRESTES, C. V.; BENDASSOLLI, J. A. Síntese e Controle de Qualidade da ureia enriquecida em ¹³C para diagnóstico da *Helicobacter pylori* (HP). **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 1, p. 107-113, 2013.

SANTOS, M. S.; COELHO, F. Oxidizing Morita–Baylis–Hillman adducts towards vicinal tricarbonyl compounds. **Royal Society of Chemistry Advances**, London, v. 2, p. 3237–3241, 2012.

SCHELLEKENS, R. C. A.; STELLAARD, F.; WOERDENBAG, H. J.; FRIJLINK, H. W.; KOSTERINK, J. G. W. Applications of stable isotopes in clinical pharmacology. **British Journal of Clinical Pharmacology**, London, v. 72, n. 6, p. 879-897, 2011.

SHI, XIAO-XIN.; YAO, JIAN-ZHONG.; KANG, LI.; SHEN, CHUN-LI.; YI, F. Asymmetric syntheses of both enantiomers of amphetamine hydrochloride *via* bakers' yeast reduction of phenylacetone. **Journal of Chemical Research**, St. Albans, v. 2004, p. 681–683, 2004.

SILVA, J. M. K.; VALLARES, C. A.; MONTEIRO, M. S.; CALAÚTO, C.; SANTOS, A. F.; MATTOS, R. Validation of a rapid stool antigen test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 53, n. 3, p. 125-128, 2010.

SIMPSON, T. W.; GOLDBERG, R. D.; MITCHEL, I. V.; BARIBEAU, J. M. Transient enhanced diffusion of boron in silicon; the interstitial flux. **Material Research Society Proceedings**, Cambridge, v. 438, p. 15-20, 1997.

SIVAEV, I. B.; BREGADZE, V. I. L-4-Boronophenylalanine (all around the one molecule). **Arkivoc**, Gainesville, v. 4, p. 47-61, 2008.

SNYDER, H. R.; REEDY, A. J.; LENNARZ, W. J. Synthesis of aromatic boronic acids. aldehydo boronic acids and a boronic acid analog of tyrosine. **Journal of American Chemical Society**, Easton, v. 80, p. 835-838, 1958.

SOLOWAY, A. H.; TJARKS, W.; BARNUM, B. A.; RONG, F.; BARTH, R. F.; CODOGNI, I. M.; WILSON, J. G. The chemistry of neutron capture therapy. **Chemical Reviews**, Easton, v. 98, p. 1515-1562, 1998.

TAVARES, C. R. O.; BENDASSOLLI, J. A.; COELHO, F.; SANT'ANA FILHO, C. R.; PRESTES, C. V. 15N-labed glycine synthesis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 3, p. 1-9, 2006.

TAVARES, C. R. O.; BENDASSOLLI, J. A.; RIBEIRO, D. N.; ROSSETE, A. L. R. M. 15N-labeled glyphosate synthesis and its practical effectiveness. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, n. 1, p. 96-101, 2010.

SAMSEL, E. G.; SIMPSON, B. M. Enantioselective Synthesis of L-4boronophenylalanine (L-BPA). US00 5157149A. Progress in Neutron Capture Therapy for Cancer, Heidelberg, v. 20, p. 251-254, 1992.

URGELL, M. M.; IGLESIAS, J.; CASAS, J.; SAVIRON, J. M.; QUINTANILLA, M. The production of stable isotope in Spain. In: UNITED NATIONS INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE PEACEFUL OF ATOMIC ENERGY, 3., 1964, Madrid. Vienna: IAEA, 1964. p. 491.

VOLPI, E.; MITTENDORFER, B.; RASMUSSEN B. B.; WOLFE, R. R.; The Response of Muscle Protein Anabolism to Combined Hyperaminoacidemia and Glucose-Induced Hyperinsulinemia Is Impaired in the Elderly. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Lawrence, v. 85, n. 12, 4481-4490, 2000.

WOLFE, R. R. Regulation of muscle protein by amino acids. **The Journal of Nutrition,** Bethesda, v. 132, p. 3219S-3224S, 2002.

YAMAMOTO, T.; MORITA, T.; TAKAGI, J.; YAMAKAWA, T. NiCl₂(PMe₃)₂ - Catalyzed Borylation of Aryl Chlorides. **Organic Letters,** Washington, DC, v. 13, n. 21, p. 5766-5769, 2011.

YAMAMOTO, T.; NAKAI, K.; KAGEJI, T.; KUMADA, H.; ENDO, K.; MATSUDA, M.; SHIBATA, Y.; MATSUMURA, A. Boron neutron capture therapy for newly diagnosed glioblastoma. **Radiotherapy and Oncology**, Amsterdam, v. 91, p. 80-84, 2009.

YANG, L.; LIN, C.; WANG, L.; GUO, H.; WANG, X. Hypoxia and hypoxia-inducible factors in glioblastoma multiforme progression and therapeutic implications. **Experimental Cell Research**, New York, v. 318, p. 2417-2426, 2012.

YONEDA, Y.; UCHIJIMA, T.; MAKISHIMA, S. Separation of boron Isotope by ion exchange. **The Journal of Physical Chemistry**, Tokyo, v. 63, n. 12, p. 2057-2058, 1959.

ZAIDLEWICZ, M.; CYTARSKA, J.; DZIELENDZIAK, A.; ZIEGLER-BOROWSKA, M. Shynthesis of boronated phenylalanine analogues with a quaternary center for boron neutron capture therapy. **Arkivoc**, Gainesville, v. 3, p. 11-21, 2004.

ZAIDLEWICZ, M.; WOLAN, A. Syntheses with organoboranes. XIII. Synthesis of ω -(4-bromophenyl)alkanoic acids and their borylation. **Journal of Organometallic Chemistry**, Lausanne, v. 657, p. 129-135, 2002.