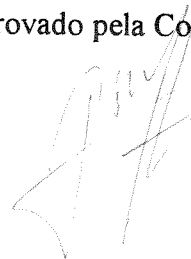


"Este exemplar corresponde à redação final da tese
defendida por Eugênia Cristina Souza Brenelli
e aprovado pela Comissão Julgadora"



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

Título:

REDUÇÃO DE ALGUNS COMPOSTOS
CARBONÍLICOS DERIVADOS DE FENIL CETONAS
EMPREGANDO-SE FERMENTO DE PÃO
(*Saccharomyces cerevisiae*)

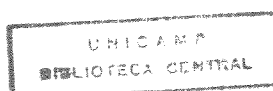
TESE DE DOUTORADO

EUGÊNIA CRISTINA SOUZA [BRENELLI]

CH000305-774
t. 9481 BC (HM)

ORIENTADOR: PAULO JOSÉ SAMENHO [MORAN]

Campinas - 1994



"In the field of observation, chance favors only the prepared mind"

Louis Pasteur

"The seeds of great discoveries are constantly floating around us, but they only take roots in minds well prepared to receive them"

Joseph Henry

Dedico este trabalho ao meu filho Ricardo

AGRADECIMENTOS

- ☺ Ao Prof. Moran pela orientação e amizade;
- ☺ Ao CNPq pela bolsa de estudos concedida e apoio ao projeto e ao FAEP pelo auxílio ponte concedido;
- ☺ Aos funcionários do Instituto de Química, especialmente à Vanda e ao Chico, técnicos de laboratório; pelo apoio técnico ao trabalho;
- ☺ Ao prof. José Augusto pelos reagentes e materiais cedidos;
- ☺ À Alcione, estagiária e especialmente à Rosi aluna de iniciação científica pelos experimentos com crisotila;
- ☺ Ao Prof. Pilli pela permissão ao uso dos cromatógrafos à gas e líquido;
- ☺ Ao Nasmy e à Profª Bel Felisberti pela ajuda na confecção e interpretação das amostras analisadas no microscópio eletrônico e à Rita pelas fotos no microscópio óptico;
- ☺ Ao Valmir e à Márcia pela ajuda com o micro;
- ☺ À Fleischmann Royal, nas pessoas do Sr. Geraldo M. de Antonio e Sr. Ronaldo A. Barbosa, pela gentileza com que nos receberam;
- ☺ Ao Afrânio pelo apoio em todos os momentos;
- ☺ Aos amigos mais chegados, Ana Maria, Márcia, Valmir, Solange, Shirley, Graziella e Cíntia, pelos momentos de descontração e apoio;
- ☺ Aos amigos do laboratório e do Instituto de Química pela convivência agradável;
- ☺ À Isaura minha sogra e especialmente à minha mãe Elzira pelo suporte doméstico.

PUBLICAÇÕES PRÉVIAS DO TRABALHO DE TESE

- Brenelli, E. C. S.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R.; 4th Brazilian Meeting on Organic Synthesis; "Baker's yeast asymmetric reductions of 1,2-diketones"; *Abstracts* p.46, Teresópolis-RJ; 1990.
- Brenelli, E. C. S.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R.; 5th Brazilian Meeting on Organic Synthesis; "Chemical and microbiological reduction of 2-chloropropiophenone"; *Abstracts* p. 150; Campinas-SP; 1992.
- Brenelli, E. C. S.; Carvalho, M.; Okubo, M. T.; Marques, M.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R.; Sorrilha, A. E. P. M.; IUPAC-NOST International Symposium on Enzymes in Organic Synthesis; "Enantioselective synthesis of (-)-(R)-1-phenylethanolamines using baker's yeast reduction of some substituted α -methyl phenyl ketones"; *Abstracts* OC-45; Nova Delhi-Índia; 1992.
- Brenelli, E. C. S.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R.; Joeke, I.; Almeida, R.; European Symposium on Biocatalysis; "Reduction of α -azidopropiophenone by immobilized baker's yeast"; *Abstracts* P-64; Graz-Áustria; 1993. Artigo na íntegra a ser publicado em *Biocatalysis*.
- Brenelli, E. C. S.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R.; "Preparation of (-)-(1R,2S)-1-phenyl-1-propane-1,2-diol by fermenting baker's yeast reduction of 1-phenyl-1,2-propanedione"; *Synth. Commun.* 1990, 20, 261.
- Brenelli, E. C. S.; Carvalho, M.; Okubo, M. T.; Marques, M.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R.; Sorrilha, A. E. P. M.; "Enantioselective synthesis of (R)-(-)-1-phenylethanolamines using baker's yeast reduction of some substituted α -methyl phenyl ketones"; *Indian J. Chem.* 1992, 31B, 821.

ÍNDICE

	página
ABREVIATURAS	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iv
I - INTRODUÇÃO	1
I.1 - Importância da Atividade Óptica em Compostos Biologicamente Ativos	1
I.1.1 - Tratamento Teórico das Interações entre Enantiômeros e Sistemas Biológicos	1
I.1.2 - Interação de uma Droga Quiral com um certo Receptor	2
I.2 - Métodos de Obtenção de Compostos Ópticamente Puros	5
I.3 - Reduções Assimétricas Enzimáticas	7
I.3.1 - Considerações Gerais sobre Enzimas	7
I.3.2 - Sistemas Regeneradores de Coenzimas	11
I.3.3 - Mecanismo das Reduções Assimétricas Enzimáticas	14
I.3.3.1 - Estereoespecificidade de Desidrogenases NAD(P)H Dependentes	15
I.3.4 - Regra de Prelog	17
I.4 - Reduções Assimétricas Microbiológicas	17
I.4.1 - Considerações Gerais	18
I.4.2 - Fermento de Pão (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	21
I.4.3 - Imobilização de Células	22
I.5 - Métodos Analíticos para Determinação da Pureza Enantiomérica	24
I.6 - Referências Bibliográficas	27
II - OBJETIVO	32
III - RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
III.1 - Redução de Benzoilacetato de Etila por Fermento de Pão	33
III.2 - Redução de Derivados de α -Ceto Ácidos	36
III.2.1 - Redução de Benzoilformiato de Etila por Fermento de Pão	36
III.2.2 - Redução de Cianeto de Benzoila por Fermento de Pão	38
III.2.3 - Redução de Benzoilformamida por Fermento de Pão	39
III.3 - Redução de α -Dicetonas	41
III.3.1 - Redução de 1-fenil-1,2-propanodiona por Fermento de Pão	41

III.3.2 - Redução de Benzila por Fermento de Pão	46
III.4 - Redução de Fenil Cetonas α -Substituídas	49
III.4.1 - Redução de ($\pm$)-2-cloropropiofenona por Fermento de Pão	49
III.4.1.1 - Redução de ($\pm$)-2-cloropropiofenona por NaBH ₄	54
III.4.2 - Redução de ($\pm$)-2-bromo e ($\pm$)-2-iodopropiofenona por Fermento de Pão	56
III.4.2.1 - Redução de ($\pm$)-2-bromopropiofenona por NaBH ₄	61
III.4.3 - Redução de ($\pm$)-2-zidopropiofenona por Fermento de Pão	62
III.4.4 - Considerações sobre as Reduções de Fenil Cetonas α -Substituídas por Fermento de Pão	71
III.5 - Referências Bibliográficas	74
CONCLUSÕES	79
IV - EXPERIMENTOS	80
IV.1 - Instrumentos Utilizados	80
IV.2 - Informações Gerais	81
IV.3 - Descrição Geral dos Procedimentos Empregados nas Reduções Microbiológicas	81
IV.3.1 - Redução com Fermento de Pão na Presença de Açúcar e Sulfato de Zinco: Método A	81
IV.3.2 - Redução com Fermento de Pão sem Aditivos: Método B	82
IV.3.3 - Redução com Fermento de Pão na Presença de Açúcar: Método C	82
IV.3.4 - Redução com Fermento de Pão na Presença de m-dinitrobenzeno (m-DNB): Método D	82
IV.3.5 - Redução com Fermento de Pão Imobilizado (FPI) em Montmorilonita K10: Método E	82
IV.3.6 - Redução com Fermento de Pão Imobilizado (FPI) em Crisotila : Método F	83
IV.4 - Imobilização do Fermento de Pão	83
IV.4.1 - Imobilização do Fermento de Pão em Montmorilonita K10	83
IV.4.2 - Imobilização do Fermento de Pão em Crisotila	83
IV.5 - Procedimento para a Determinação do Excesso Enantiomérico (ee)	83
IV.6 - Preparação dos Reagentes	84
IV.6.1 - Preparação de Benzoilacetato de Etila (2)	84
IV.6.2 - Preparação de Isonitrosopropiofenona (44)	85
IV.6.3 - Preparação de 1-fenil-1,2-propanodiona (20)	86

IV.6.4 - Preparação de Benzoilformamida (13)	86
IV.6.5 - Preparação de (±)-2-azidopropiofenona (39)	87
IV.6.6 - Preparação de (±)-2-iodopropiofenona (37)	88
IV.6.7 - Preparação de (±)-2-cloropropiofenona (28)	88
IV.7 - Reduções Utilizando-se Fermento de Pão	89
IV.7.1 - Redução de Benzoilacetato de Etila (2)	89
IV.7.2 - Redução de Benzoilformiato de Etila (10)	90
IV.7.3 - Redução de Cianeto de Benzoila (12)	91
IV.7.4 - Redução de Benzoilformamida (13)	91
IV.7.5 - Redução de 1-fenil-1,2-propanodiona (20)	92
IV.7.6 - Redução de Benzila (25)	93
IV.7.7 - Redução de (±)-2-cloropropiofenona (28)	94
IV.7.8 - Redução de (±)-2-iodopropiofenona (37)	95
IV.7.9 - Redução de (±)-2-bromopropiofenona (35)	96
IV.7.10 - Redução de (±)-2-azidopropiofenona (39)	97
IV.7.11 - Redução de (±)-2-azidopropiofenona (39) a pH 3	100
IV.7.12 - Redução de (±)-2-azidopropiofenona (39) a pH 9	101
IV.7.13 - Redução de (±)-2-azidopropiofenona (39) com Acompanhamento da Reação através da Retirada de Aliquotas	101
IV.8 - Outras Reações	102
IV.8.1 - Reação de Benzoilação do anti (1R,2S)-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol	102
IV.8.2 - Redução de (±)-2-cloropropiofenona com NaBH ₄	103
IV.8.3 - Reação de Epoxidação de syn (±)-2-cloro-1-fenil-1-propanol (29)	103
IV.8.4 - Reação de Epoxidação dos Isômeros syn e anti de 2-cloro-1-fenil-1-propanol (29)	104
IV.8.5 - Reação de Epoxidação do Isômero anti do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (29)	105
IV.8.6 - Reação de Epoxidação do Isômero syn do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (29)	106
IV.8.7 - Redução de (±)-2-bromopropiofenona com NaBH ₄	107
IV.8.8 - Reação de Acetilação da Mistura de Isômeros syn e anti de 2-azido-1-fenil-1-propanol (40)	108
IV.8.9 - Redução da Mistura de Isômeros syn e anti	

do 2-azido-1-fenil-1-propanol (40) com H ₂ e Pd/C	109
IV.9 - Referências Bibliográficas	111
APÊNDICE - ESPECTROS	113
RMN- ¹ H do Eu(hfc) ₃ (1)	114
RMN- ¹ H do Benzoilacetato de Etila (2)	115
IV do Benzoilacetato de Etila (2)	116
RMN- ¹ H do (S)-(-)-3-Hidróxi-3-fenilpropionato de Etila (3)	117
IV do (S)-(-)-3-Hidróxi-3-fenilpropionato de Etila (3)	118
RMN- ¹ H do (R)-(-)-Mandelato de Etila (11)	119
IV do (R)-(-)-Mandelato de Etila (11)	120
IV da Benzoilformamida (13)	121
RMN- ¹ H da (R)-(-)-Mandelamida (14)	122
RMN- ¹ H da (R)-(-)-Mandelamida (14) na presença de D ₂ O	123
IV da (R)-(-)-Mandelamida (14)	124
RMN- ¹ H da Isonitrosopropiofenona (44)	125
IV da Isonitrosopropiofenona (44)	126
RMN- ¹ H da 1-Fenil-1,2-propanodiona (20)	127
IV da 1-Fenil-1,2-propanodiona (20)	128
RMN- ¹ H do 1-Fenil-1,2-propanodiol (21)	129
IV do 1-Fenil-1,2-propanodiol (21)	130
RMN- ¹ H do Dibenzoato do 1-Fenil-1,2-propanodiol (22)	131
IV do Dibenzoato do 1-Fenil-1,2-propanodiol (22)	132
RMN- ¹ H da Benzoína (26)	133
RMN- ¹ H da Benzoína (26) na presença de Eu(hfc) ₃ (1)	134
IV da Benzoína (26)	135
RMN- ¹ H do 1,2-Difenil-1,2-etanodiol (27)	136
IV do 1,2-Difenil-1,2-etanodiol (27)	137
RMN- ¹ H da (±)-2-Cloropropiofenona (28)	138
IV da (±)-2-Cloropropiofenona (28)	139
RMN- ¹ H da Mistura de Isômeros syn e anti do 2-Cloro-1-fenil-1-propanol (29)	140
RMN- ¹ H da Mistura de Isômeros syn e anti do 2-Cloro-1-fenil-1-propanol (29) na presença de Eu(hfc) ₃ (1)	141
IV da Mistura de Isômeros syn e anti do 2-Cloro-1-fenil-1-propanol (29)	142
RMN- ¹ H do syn -(1R,2R)-(-)-2-Cloro-1-fenil-1-propanol (29)	143
RMN- ¹ H do anti -(1R,2S)-(-)-2-Cloro-1-fenil-1-propanol (29)	144
RMN- ¹ H do syn -(±)-2-Cloro-1-fenil-1-propanol (29)	145

RMN- ¹ H do syn -(±)-2-Cloro-1-fenil-1-propanol (29) na presença de Eu(hfc) ₃ (1)	146
IV do syn -(±)-2-Cloro-1-fenil-1-propanol (29)	147
RMN- ¹ H da Mistura de Isômeros cis e trans do 1-Fenil-1,2-epóxiopropano (30)	148
IV da Mistura de Isômeros cis e trans do 1-Fenil-1,2-epóxiopropano (30)	149
RMN- ¹ H do cis -(1R,2S)-(-)-1-Fenil-1,2-epóxiopropano (30)	150
RMN- ¹ H do trans -(1R,2R)-(+)-1-Fenil-1,2-epóxiopropano (30)	151
RMN- ¹ H do cis -(±)-1-Fenil-1,2-epóxiopropano (30)	152
IV do cis -(±)-1-Fenil-1,2-epóxiopropano (30)	153
RMN- ¹ H da Mistura de Isômeros syn e anti do 2-Bromo-1-fenil-1-propanol (36)	154
RMN- ¹ H da Mistura de Isômeros syn e anti do 2-Bromo-1-fenil-1-propanol (36) na presença de Eu(hfc) ₃ (1)	155
RMN- ¹ H do syn -(±)-2-Bromo-1-fenil-1-propanol (36)	156
RMN- ¹ H do syn -(±)-2-Bromo-1-fenil-1-propanol (36) na presença de Eu(hfc) ₃ (1)	157
RMN- ¹ H da (±)-2-Iodopropiofenona (37)	158
IV da (±)-2-Iodopropiofenona (37)	159
RMN- ¹ H da Propiofenona (32)	160
IV da Propiofenona (32)	161
RMN- ¹ H do 1-Fenil-1-propanol (38)	162
RMN- ¹ H da (±)-2-Azidopropiofenona (39)	163
IV da (±)-2-Azidopropiofenona (39)	164
RMN- ¹ H da Mistura de Isômeros syn e anti do 2-Azido-1-fenil-1-propanol (40)	165
RMN- ¹ H da Mistura de Isômeros syn e anti do 2-Azido-1-fenil-1-propanol (40) na presença de Eu(hfc) ₃ (1)	166
IV da Mistura de Isômeros syn e anti do 2-Azido-1-fenil-1-propanol (40)	167
RMN- ¹ H da Mistura de Acetatos syn e anti do 2-Azido-1-fenil-1-propanol (41)	168
IV da Mistura de Acetatos syn e anti do 2-Azido-1-fenil-1-propanol (41)	169
RMN- ¹ H da Mistura syn -(1R,2R)-(-)-norpseudoefedrina (42) e anti -(1R,2S)-(-)-norefedrina (43)	170
RMN- ¹ H da Mistura syn -(1R,2R)-(-)-norpseudoefedrina (42) e anti -(1R,2S)-(-)-norefedrina (43) na presença de Eu(hfc) ₃ (1)	171
RMN- ¹ H da anti -(1S,2R)-(+)-norefedrina (43) (amostra padrão) na presença de Eu(hfc) ₃ (1) e RMN- ¹ H da Mistura de (1R,2R)-(-)-(42) e (1R,2S)-(-)-(43) à qual foi adicionada (1S,2R)-(+)-norefedrina padrão	172
IV da Mistura syn -(1R,2R)-(-)-norpseudoefedrina (42) e anti -(1R,2S)-(-)-norefedrina (43)	173

ABREVIATURAS

CG	cromatografia gasosa
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
CLSR	reagente de deslocamento quiral lantanídeo
δ	deslocamento químico
DMAP	dimetilaminopiridina
<i>ee</i>	excesso enantiomérico
EM	espectrometria de massas
Et	etil
FPI	fermento de pão imobilizado
FPL	fermento de pão livre
IV	infravermelho
J_{vic}	constante de acoplamento vicinal
m/z	massa/carga
Me	metil
m-DNB	m-dinitrobenzeno
NAD ⁺	nicotinamida adenina dinucleotídeo na sua forma oxidada
NADH	nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADP ⁺	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato na sua forma oxidada
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
PF	ponto de fusão
Ph	fenil
py	piridina
<i>po</i>	pureza óptica
<i>RQ</i>	rendimento químico
RMN- ¹ H	ressonância magnética nuclear de próton
TMS	tetrametilsilano

RESUMO

Álcoois quirais são intermediários importantes na síntese de substâncias com atividade biológica, a saber, medicamentos, agroquímicos e feromônios.

A redução assimétrica de cetonas proquirais por microorganismos, especialmente fermento de pão (*Saccharomyces cerevisiae*), é uma metodologia que tem se mostrado muito útil na obtenção de álcoois quirais em bons rendimentos químicos e ópticos.

Neste trabalho estudou-se a redução assimétrica por fermento de pão de alguns compostos carbonílicos pertencentes às seguintes classes: fenil cetonas α -alquil substituídas, α -dicetonas, β -ceto ésteres e derivados de ceto ácidos α -substituídos.

A redução do benzoilacetato de etila originou o (S)-(-)-3-hidróxi-1-fenilpropionato de etila em bons rendimentos químicos e ópticos, o qual pode ser utilizado como intermediário chave na síntese de substâncias ativas para o tratamento da depressão como por exemplo a fluoxetina.

Reduziu-se também a 1-fenil-1,2-propanodiona, e verificou-se a obtenção exclusiva do 1,2-diol **anti** de configuração absoluta (1R,2S), em altos rendimentos químicos e ópticos.

As reduções de (+)-2-bromopropiofenona, (+)-2-cloropropiofenona e (+)-2-azidopropiofenona produziram os diastereoisômeros **syn** e **anti** dos álcoois correspondentes, com excessos enantioméricos variáveis e geralmente com baixos rendimentos químicos, utilizando-se células livres de fermento de pão. O rendimento químico da redução da (+)-2-azidopropiofenona aumentou consideravelmente de 8% para 74% a 89% ao se empregar, na redução, o fermento de pão imobilizado (FPI) em crisotila e em montmorilonita K10 respectivamente. Houve também um aumento no excesso enantiomérico dos azido álcoois **syn** e **anti** e pôde-se fazer várias reutilizações do FPI. A hidrogenação catalítica utilizando Pd/C como catalisador, da mistura de azido álcoois **syn** e **anti** originou os correspondentes isômeros dos amino álcoois (1R,2R)-(-)-norpseudoefedrina e (1R,2S)-(-)-norefedrina, os quais tem sido empregados como supressores de apetite.

Com todos os substratos estudados observou-se que os álcoois obtidos condiziam com a regra de Prelog, ou seja, o ataque do hidreto se deu através da face Re do substrato carbonílico, levando-se em consideração que o grupo fenila é maior que a porção alquila da molécula de substrato.

Os excessos enantioméricos dos produtos da maioria das reduções foram determinados através de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton na presença de um reagente de deslocamento quiral, Eu(hfc)_3 .

De um modo geral as reduções assimétricas por fermento de pão dos vários substratos empregados neste trabalho forneceram álcoois quirais funcionalizados em bons rendimentos químicos e ópticos. Estes álcoois podem ser utilizados como precursores na síntese de substâncias quirais com atividade biológica. Outras vantagens da utilização do fermento de pão incluem a facilidade no manuseio, pronta disponibilidade e o baixo custo.

ABSTRACT

Chiral alcohols are important intermediates for the synthesis of biologically active substances like pharmaceuticals, agrochemicals and pheromones.

Microbial asymmetric reduction of prochiral ketones, especially baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) is a very useful methodology to obtain chiral alcohols with high chemical and optical yields.

In this work we investigated the baker's yeast asymmetric reduction of various carbonyl compounds including α -alkyl substituted phenyl ketones, α -diketones, β -keto esters and α -substituted keto acid derivatives.

The baker's yeast reduction of ethyl benzoylacetate formed the ethyl (S)-(-)-3-hydroxy-1-phenyl propionate with good optical and chemical yields, which can be used as key intermediate in the synthesis of active substances like fluoxetine used for the treatment of depression.

In the reduction of 1-phenyl-1,2-propanodione we observed the exclusive formation of the 1,2-diol with relative and absolute configuration **anti** (1R,2S) either with high chemical and optical yields.

The baker's yeast asymmetric reductions of ($\pm$)-2-bromopropiophenone, ($\pm$)-2-chloropropiophenone and ($\pm$)-2-azidopropiophenone using free cells of the yeast, formed the diastereomers **syn** and **anti** of the respective alcohols with variable enantiomeric excesses and generally in poor chemical yields. The chemical yield of the reduction of ($\pm$)-2-azidopropiophenone was greatly improved from 8% to 74% and 89% when immobilized baker's yeast on chrysotile and on montmorillonite K10 respectively, were used. The enantiomeric excesses of the azido alcohols **syn** and **anti** were also improved and the IMBY could be reused several times. The catalytic hydrogenation of the azido alcohols mixture using Pd/C as catalyst, formed respectively the amino alcohols (1R,2R)-(-)-norpseudoephedrine and (1R,2S)-(-)-norephedrine, which have been used as appetite suppressants.

The Prelog's rule was observed in all baker's yeast reductions performed in this work, i. e. hydride transfer from the coenzyme occurred to the *Re* face of the carbonyl compound, taking into account that the phenyl group is larger than the alkyl moiety in the substrate molecule.

The enantiomeric excesses of the chiral alcohols were determined through proton nuclear magnetic resonance with chiral lanthanide shift reagent Eu(hfc)₃.

Generally, the baker's yeast asymmetric reduction of the substrates employed in this work, gave functionalized chiral alcohols with good chemical and optical yields. These alcohols can be used as chiral building blocks in the synthesis of biologically active substances. Other advantages of using baker's yeast include easy handling, ready availability and low cost.

I - INTRODUÇÃO

I.1 - Importância da Atividade Óptica em Compostos Biologicamente Ativos:

Há mais de um século, Louis Pasteur foi pioneiro ao reconhecer a atividade óptica como resultado da assimetria molecular e também ao separar os enantiômeros de uma mistura racêmica¹.

Nos últimos anos, a consciência que moléculas ópticamente ativas são importantes na atividade biológica de medicamentos e agroquímicos aumentou muito.

Como as enzimas do corpo são quirais, os enantiômeros da maioria dos medicamentos são metabolizados por diferentes caminhos bioquímicos e com velocidades diferentes. Assim é praticamente impossível seguir as ações dos enantiômeros e seus destinos bioquímicos quando a dose é uma mistura racêmica. Também existem diferenças na maneira como alguns indivíduos reagem às formas enantioméricas de um medicamento².

Atualmente, as autoridades americanas, européias e japonesas, regulamentam a produção e venda destes produtos na sua forma quiralmente pura ao invés de racematos.

Os avanços significativos obtidos no desenvolvimento de fases estacionárias quirais para cromatografia líquida de alta eficiência^{3,4} também contribuíram para esta conscientização, porque permitiram a separação rotineira de materiais ópticamente puros a partir da resolução de racematos, em quantidades adequadas para os estudos farmacológicos dos enantiômeros^{1,5,6}.

A quantidade de substâncias quiralmente puras que são comercializadas hoje, ainda é pequena. Entretanto, a tendência é que isto venha a se modificar pois há 5 anos atrás, cerca de 5 a 10% dos medicamentos desenvolvidos eram homoquirais (um único enantiômero), agora, nas grandes companhias cerca de 60% dos medicamentos desenvolvidos são homoquirais. Além disso, todas as moléculas quirais que estão sofrendo julgamentos clínicos no momento são homoquirais, o que resultará numa grande proporção destas substâncias alcançando o mercado em 6 a 8 anos⁷.

I.1.1 - Tratamento Teórico das Interações entre Enantiômeros e Sistemas Biológicos:

O primeiro tratamento teórico a respeito das interações entre enantiômeros e sistemas biológicos foi postulado por Pfeiffer em 1956. Ele observou que compostos quirais muito potentes apresentavam uma grande diferença na potência entre os enantiômeros e a

partir disto formulou a seguinte regra: "quanto maior a diferença no efeito farmacológico dos isômeros ópticos de uma droga, menor a sua dose efetiva"⁸.

Supondo-se genericamente a interação reversível de uma droga com um receptor, formando-se um complexo droga-receptor, o qual produz uma resposta. Diz-se nestas condições que a droga é **agonista** pois tem uma **afinidade** para o receptor e também uma **atividade intrínseca** neste receptor, que se manifestou através da resposta. A potência de uma droga é a sua capacidade de provocar uma resposta.

Se uma outra molécula é capaz de competir com uma droga pela ligação ao receptor sem apresentar uma atividade intrínseca, ela pode através disto impedir a resposta para a droga sendo descrita como **antagonista**.

Cada enantiômero apresenta diferentes afinidades em sua interação com um certo receptor. Eutômero é o enantiômero com maior afinidade pelo receptor e distômero aquele com menor afinidade. A razão entre eles é chamada de razão eudísmica e seu logaritmo é chamado de índice eudísmico. Frequentemente há uma correlação linear entre o índice eudísmico e a afinidade, onde a inclinação de tais retas é uma medida quantitativa da estereosseletividade do sistema. Este tipo de análise foi feito para várias séries de compostos validando a regra de Pfeiffer.

1.1.2 - Interação de uma droga quiral com um certo receptor:

As possibilidades de interação entre um certo receptor e enantiômeros podem ser melhor compreendidas com o auxílio da Figura 1.

Considerando-se uma droga que tenha sítios **abcd** capazes de interagir com sítios específicos complementares **ABCD** em um receptor. Assim, **Aa** será uma interação significativa enquanto **Ab**, **Ac** e **Ad**, serão de importância mínima e possivelmente repulsivas. Fixando-se a conformação do receptor, uma interação máxima pode ser obtida de uma combinação de interações significativas (**Aa + Bb + Cc + Dd**). No esquema (i) da Figura 1, mantendo-se cada grupo **a**, **b**, **c** e **d** fixos alternadamente, encontramos que o enantiômero *R* terá uma interação máxima (**Aa + Bb + Cc + Dd**) e oito interações significativas simples. Igualmente, o enantiômero *S* terá seis interações significativas duplas (por exemplo (**Aa + Dd**)).

Quando o isômero *R* apresentar um alto grau de ajuste molecular ao receptor e houver uma grande cooperatividade das interações entre este isômero e o receptor a sua atividade será máxima e conseqüentemente, o enantiômero *S* será praticamente inativo neste receptor.

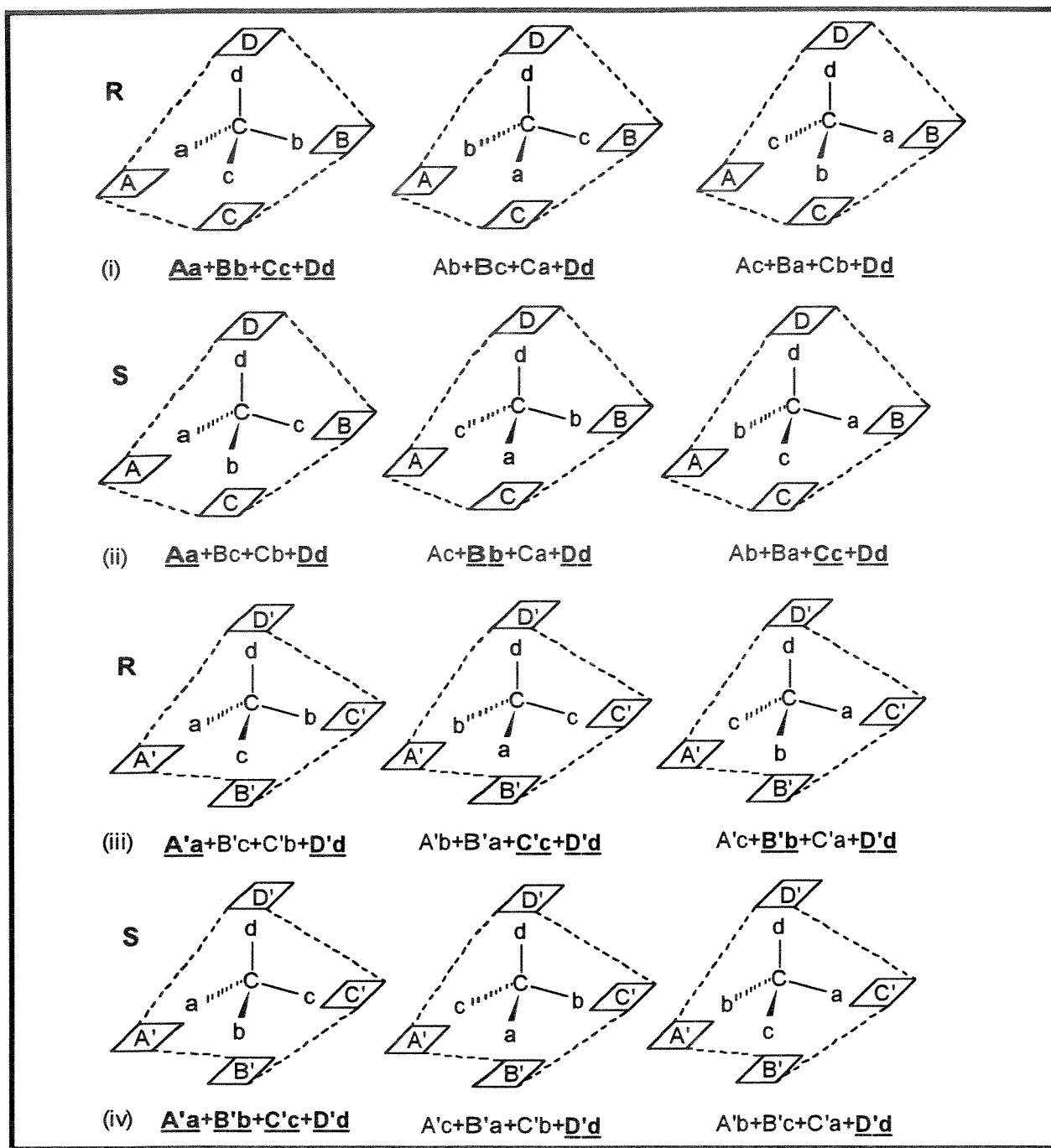


FIGURA 1 - Interações quirais com um receptor. Maiores interações são indicadas como Aa. (i). Com d fixo, o enantiômero R pode produzir uma interação máxima e 2 interações significativas maiores e alternando-se o grupo fixo de cada vez, há um total de 8 interações simples. (ii). O enantiômero S produz 3 interações duplas significativas com d fixo. De acordo com uma mudança conformacional no receptor (iii), o enantiômero R agora produz 3 interações duplas significativas maiores e (iv), o isômero S tem uma interação máxima e 2 significativas maiores, novamente com d fixo⁸.

Entretanto, mesmo onde a atividade do isômero *R* é máxima, poderá haver alguma afinidade entre o isômero *S* e o receptor devido ao grande número de interações possíveis. A magnitude desta afinidade dependerá da importância relativa destas interações e da cooperatividade entre elas, e neste caso o isômero *S* poderá ser capaz de antagonizar o efeito da forma *R* pelo menos em alguma extensão.

O tratamento acima assume que não há mudança conformacional no receptor, mas este pode não ser necessariamente o caso.

Em termos do nosso modelo prévio de interação, uma mudança conformacional pode reorganizar os sítios no receptor (Figura 1 esquemas (iii), (iv)). Neste caso a forma *S* pode tornar-se mais capaz do que a forma *R* de se ligar ao receptor conformacionalmente modificado e assim o isômero *S* pode se tornar o eutômero na promoção de um efeito que pode ser o mesmo ou diferente daquele provocado pelo enantiômero *R*.

Por muitos anos o distômero foi tratado como uma espécie de lastro inativo em um racemato, assumindo-se frequentemente que este racemato na pior das hipóteses apresentaria metade da atividade do eutômero. Entretanto, como vimos acima, mesmo que apenas um dos enantiômeros tenha atividade terapêutica isso não significa que o outro isômero seja realmente inativo, pois ele tem a funcionalidade necessária para interagir com o receptor e desta forma antagonizar o eutômero ou mesmo contribuir com efeitos laterais.

Resumindo-se as considerações feitas acima podemos dizer que os principais motivos para a produção de compostos ópticamente puros incluem⁹:

- Geralmente a atividade biológica desejada está associada apenas a um dos enantiômeros.
- Os enantiômeros podem exibir diferentes atividades; ambos podem exibir atividades benéficas ou a atividade de um pode ser benéfica e a do outro ser indesejável. A produção de apenas um enantiômero permite a separação dos efeitos.
- O enantiômero não desejado é na melhor das hipóteses um lastro aplicado gratuitamente ao meio ambiente. No caso de agroquímicos ele pode ser considerado como um poluente ambiental.
- O composto ópticamente puro pode ser pelo menos duas vezes mais ativo que o racemato por causa do antagonismo onde a presença do outro enantiômero pode inibir a sua atuação.
- Para o registro de um material racêmico em países que possuem uma legislação mais severa, seria necessário investigar o efeito no metabolismo de cada enantiômero individualmente e da mistura racêmica, o que aumentaria substancialmente o custo do processo⁷.

A Tabela I apresenta alguns exemplos que ilustram os diferentes efeitos biológicos apresentados por isômeros ópticos.

Tabela 1 - Efeitos Biológicos de Pares Enantioméricos.

Cloranfenicol	(R,R) antibacteriano ⁹ (S,S) inativo ⁹
Propanolol	(S) agente β bloqueador ⁹ (R) ativo como anticoncepcional ¹⁰
Paclobutrazol	(2R,3R) fungicida ⁹ (2S,3S) regulador do crescimento de plantas ⁹
Ibuprofen	(S) analgésico ³ (R) inativo ³
Talidomida	(S) agente teratogênico potente ¹ (R) ativo como sedativo e hipnótico ¹¹
Verapamil	(S) ativo contra angina e arritmia ¹¹ (R) ativo contra cancer ¹¹
Naproxen	(S) antiinflamatório ¹² (R) 11 x menos ativo que a forma S ¹²
Feromônio do Besouro Japones	(R,Z) ativo ¹³ (S,Z) inibe a ação do outro isômero ¹³

1.2.- Métodos de Obtenção de Compostos Ópticamente Puros:

Os compostos ópticamente puros podem ser preparados de várias maneiras⁹:

- A partir de materiais provenientes do chamado "pool" quiral (aminoácidos, alcalóides, ácidos láctico e tartárico, terpenos, carboidratos, etc), que são materiais naturais e disponíveis. Estes materiais podem ser transformados por síntese orgânica convencional, com retenção ou inversão de configuração levando ao composto ópticamente puro desejado.
- Podem também ser obtidos através da separação de misturas racêmicas.
- A partir de síntese assimétrica com a introdução de um centro quiral em um substrato proquiral.

A Figura 2 ilustra bem todas estas possibilidades.

Considerando-se as possibilidades mencionadas acima podemos dizer que a síntese de um composto ópticamente puro tendo como materiais de partida substâncias

provenientes do "pool" quiral apresenta como principal dificuldade o fato de somente 10-20% destas substâncias estarem disponíveis a um preço acessível na faixa de 100-250 US\$/kg¹⁴.

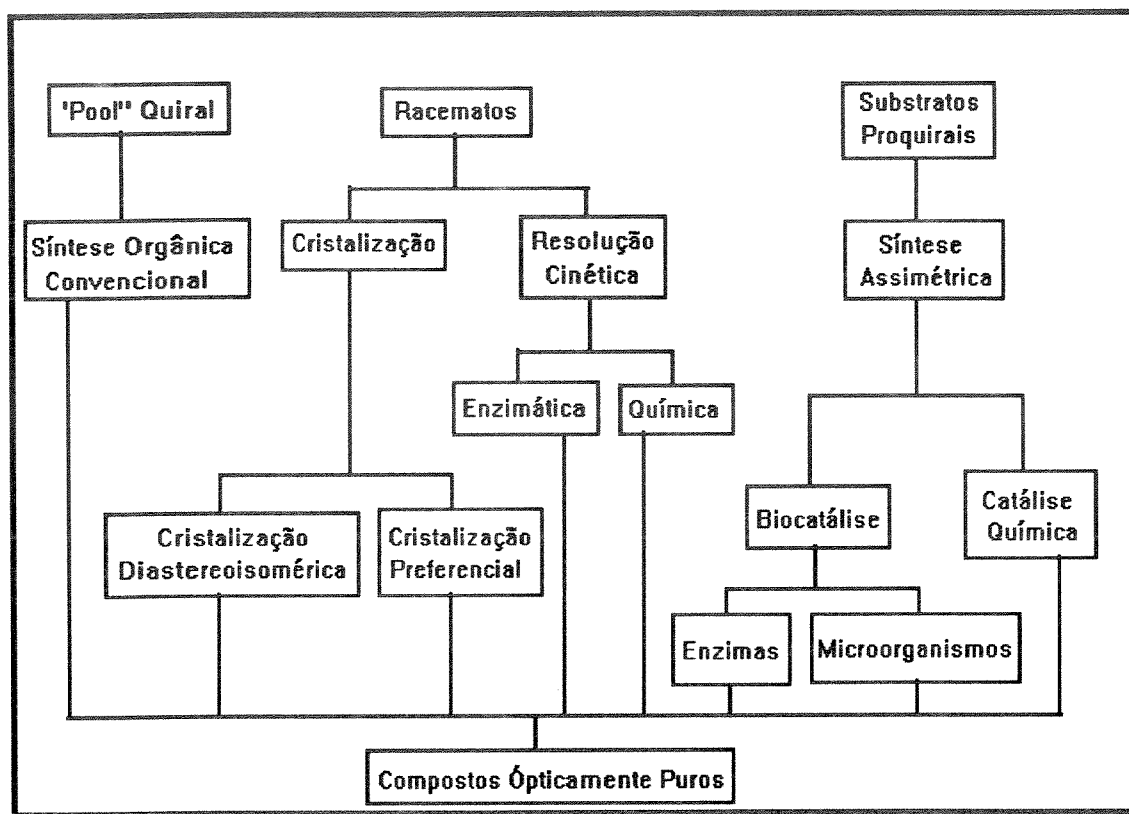


FIGURA 2 - Métodos de obtenção de compostos ópticamente puros.

A indústria tem utilizado tradicionalmente técnicas de cristalização¹⁵ para a produção de compostos ópticamente puros, embora outra metodologia, a resolução cinética mediada por enzimas esteja atraindo muita atenção ultimamente¹². O desenvolvimento de metodologias mais práticas para a síntese assimétrica e levando-se em conta que a resolução de racematos requer uma etapa extra no processo de separação (racemização do isômero não desejado para que o material de partida seja utilizado completamente); faz com que a síntese assimétrica se transforme numa alternativa cada vez mais atraente para a obtenção de compostos ópticamente puros⁴.

Uma das reações mais úteis em síntese assimétrica é a redução de uma cetona proquiral a um álcool ópticamente ativo¹⁶. Os álcoois formados neste processo podem ser utilizados no início de uma síntese como intermediários na construção de moléculas quirais

maiores ou podem servir como o produto final desejado diretamente¹⁷. As reduções assimétricas podem ser feitas empregando-se agentes redutores químicos quirais^{18,19,20,21} ou então através de enzimas ou microorganismos²².

Os métodos biológicos tem contribuído de forma decisiva para tornar as sínteses de compostos ópticamente puros mais eficientes e seguras²³. Isto é possível através do uso de rotas mais curtas com altas seletividades associadas às condições de trabalho mais suaves e com menor formação de resíduos poluentes (por exemplo, evitando-se o uso de catalisadores metálicos tóxicos ou reagentes pirofóricos)²⁴.

As reduções assimétricas enzimáticas e microbiológicas, são tópicos de particular interesse para o trabalho que desenvolvemos. Estas reduções fazem parte de uma metodologia sintética denominada **biotransformação**. Nesta metodologia, substratos são convertidos a produtos por meio de enzimas isoladas ou de enzimas presentes em células de um microorganismo. Este é um campo de trabalho que está se desenvolvendo rapidamente e entrelaça a química orgânica com a bioquímica²⁵.

1.3 - Reduções Assimétricas Enzimáticas:

1.3.1 - Considerações Gerais sobre Enzimas:

Enzimas são compostos, na sua maior parte proteínas, que atuam como catalisadores quirais controlando as velocidades da maioria das reações biológicas²⁶. Suas principais características como biocatalisadores são:

- Em relação às reações não enzimáticas, as reações mediadas por enzimas podem ser aceleradas por um fator de 10^{12} . É aceito que esta aceleração se deve principalmente à estabilização do estado de transição pela enzima^{27,28}. As enzimas são catalisadores muito eficientes pois, para uma enzima típica cada molécula de enzima pode catalisar entre 100 e 1000 reações por segundo²⁹.
- As enzimas podem selecionar entre vários grupos idênticos na mesma molécula (regiosseletividade); podem também selecionar entre grupos de reatividade similar mas de natureza química diferente (quimiosseletividade); e finalmente podem selecionar entre dois estereoisômeros de um substrato racêmico ou grupos enantiotópicos em compostos proquirais (estereosseletividade). O conjunto destas propriedades constituem a especificidade de uma enzima que é a sua característica mais importante para exploração em síntese assimétrica³. Esta estereoespecificidade das enzimas decorre em parte do fato que o substrato só pode se aproximar do sítio ativo da enzima por uma direção, pois a estrutura da enzima bloqueia a aproximação por outro caminho.

- As reações catalisadas por enzimas, geralmente acontecem em condições suaves, à temperatura ambiente, pressão atmosférica e próximas a pH neutro, minimizando problemas de rearranjo, racemização, isomerização, epimerização, que frequentemente ocorrem na metodologia tradicional³⁰.
- As enzimas são capazes de realizar a maioria das reações em química orgânica. As exceções mais notáveis incluem os rearranjos de Cope e as reações de Diels-Alder.

As enzimas são classificadas conforme o tipo de reação que catalisam. As oxidoredutases são enzimas que catalisam reações de óxido-redução e são de três tipos: as oxidases, oxigenases e desidrogenases³¹.

As oxidoredutases podem estar disponíveis nas seguintes formas²²: (i) enzimas parcial ou completamente puras, (ii) fermentos, (iii) outros microorganismos e (iv) órgãos de mamíferos (fígado, rim, etc.). As enzimas com maior utilidade em síntese, são aquelas capazes de aceitar uma faixa estrutural grande de substratos porém retendo a habilidade de operar estereoespecificamente em cada caso. As enzimas provenientes de órgãos de mamíferos geralmente tem especificidades mais amplas que as enzimas provenientes de microorganismos, mas isto pode ser compensado pela maior variedade de microorganismos disponíveis. É possível também acessar uma faixa estrutural variada de substratos, empregando-se um número limitado de enzimas cujas especificidades se entrelaçam, conforme exemplificado pela Figura 3.

As oxidoredutases e as enzimas hidrolíticas (que hidrolizam grupos funcionais como ésteres, anidridos, amidas, etc.), estão entre as enzimas mais úteis em síntese. Estas duas classes de enzimas, em 1989, foram responsáveis por 90% dos artigos publicados na literatura sobre biotransformações³².

As desidrogenases tem sido aplicadas na produção de espécies marcadas isotópicamente³³, na produção de L-amino ácidos³⁴ e principalmente em síntese na redução de compostos carbonílicos. Estas enzimas são de particular interesse para o nosso trabalho uma vez que são elas que catalisam as reações de redução (Figura 4).

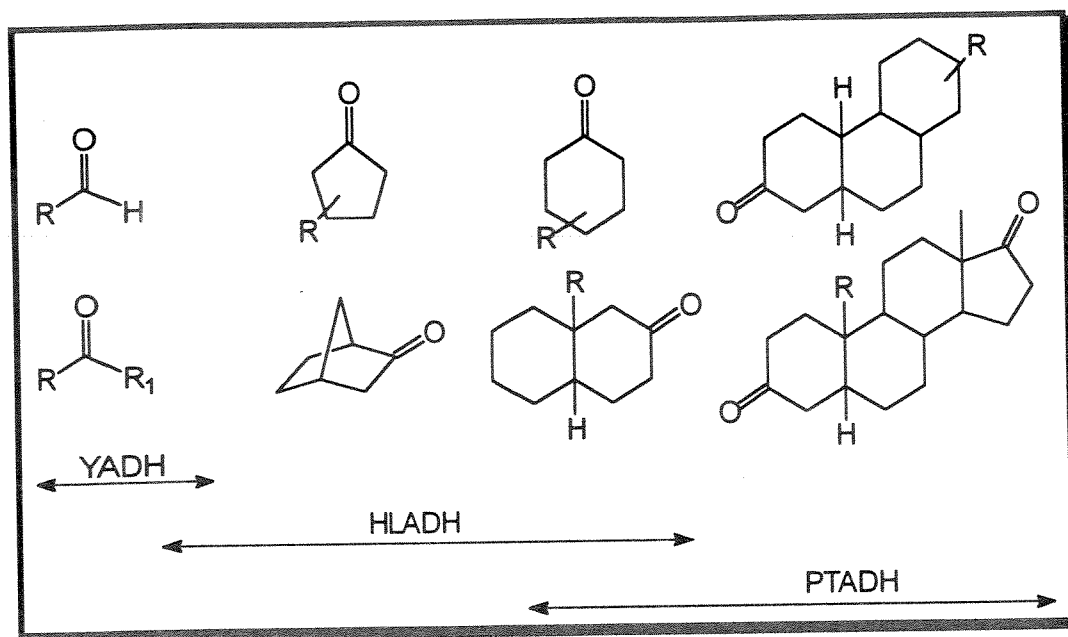


FIGURA 3 - Uma grande faixa de álcoois é acessível usando apenas três álcool desidrogenases com especificidades que se entrelaçam apropriadamente. Abreviaturas: YADH = álcool desidrogenase de fermento, HLADH = álcool desidrogenase de fígado de cavalo, PTADH = álcool desidrogenase de *Pseudomonas Tesosteronii*.

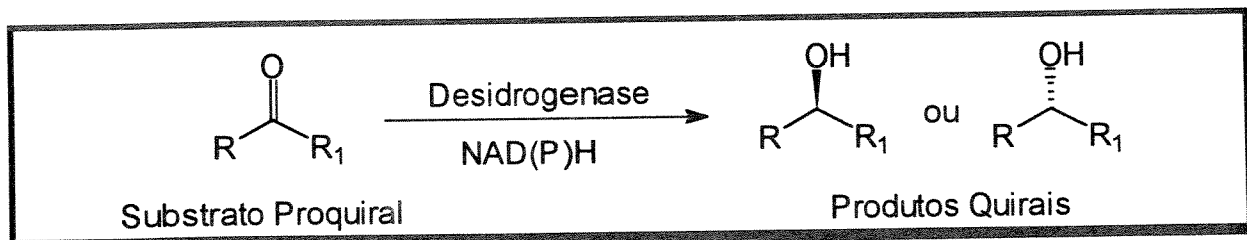


FIGURA 4 - Reação de redução de compostos carbonílicos catalisada por desidrogenase.

Para serem cataliticamente ativas, as desidrogenases em questão necessitam de coenzimas do tipo NADH ou NADPH (formas reduzidas de dinucleotídeo nicotinamida adenina e seu respectivo fosfato), que fornecem o equivalente químico para a redução. Estas coenzimas são muito sensíveis e caras. De acordo com Faber³¹, em 1988, o preço de um mol de NADH estava por volta de US\$ 3000 e um mol de NADPH por volta de US\$ 215000. Desta forma o uso estequiométrico destes reagentes é economicamente inviável. A alternativa é o uso de sistemas regeneradores in situ, que permitam o uso destas coenzimas em quantidades catalíticas.

A Tabela II mostra algumas desidrogenases que são muito utilizadas nas reduções de compostos carbonílicos e suas preferências com relação às faces destes substratos.

Embora as enzimas apresentem um potencial muito grande como biocatalisadores, a sua utilização também apresenta algumas desvantagens. Por exemplo: as enzimas podem ser caras e estão sujeitas ao fenômeno de regulação, ou seja, a sua atividade catalítica é fortemente influenciada pelas concentrações de substratos, produtos e outras espécies presentes em solução. Entre estes, a inibição das enzimas por produtos de reação que elas catalisam é a manifestação mais importante deste fenômeno³³.

Tabela II - Especificidade das desidrogenases em relação às faces dos substratos carbonílicos.

Desidrogenase	Especificidade	Coenzima	Comercialmente Disponível
YADH	Re	NADH	+
HLADH	Re	NADH	+
TBADH	Re ^a	NADPH	+
HSDH	Re	NADH	+
CFADH	Re	NADPH	-
MJADH	Si	NADPH	-
LKADH	Si	NADPH	-
PSADH	Si	NADH	-

^aa especificidade é contrária quando se utilizam cetonas pequenas como substratos.

* Abreviaturas utilizadas: YADH-álcool desidrogenase de fermento; HLADH-álcool desidrogenase de fígado de cavalo; TBADH-álcool desidrogenase de *Thermoanaerobium brockii*; HSDH-desidrogenase de hidroxí esteróide; CFADH-álcool desidrogenase de *Curvularia falcata*; MJADH-álcool desidrogenase de *Mucor javanicus*; LKADH-álcool desidrogenase de *Lactobacillus kefir*; PSADH-álcool desidrogenase de *Pseudomonas sp.*

Outro problema é a necessidade da utilização de coenzimas, ou sistemas que promovam a regeneração destas. Além disto, a manipulação de enzimas seja durante a utilização ou armazenamento é um processo bastante delicado pois elas podem se desnaturar por vários mecanismos. Entre estes mecanismos podemos citar as mudanças na conformação induzidas pela temperatura ou pelo meio ambiente, contaminação microbiana, autooxidação e finalmente destruição por pequenas quantidades de proteases presentes como contaminantes.

1.3.2 - Sistemas Regeneradores de Coenzimas:

As coenzimas NADH e NADPH, tanto podem ser regeneradas por métodos químicos, como por métodos enzimáticos. Entretanto, os métodos enzimáticos geralmente são superiores devido à sua eficiência e praticidade³⁵.

O sistema mais empregado para regenerar NADH é o **sistema Formiato/ Formiato desidrogenase (FDH)**. Neste sistema a enzima FDH catalisa a reação de oxidação de formiato a CO_2 promovendo conjuntamente a redução de NAD^+ a NADH (Figura 5). Este é considerado o melhor método para regenerar NADH³⁶, e tem sido aplicado na produção contínua de L-amino ácidos³⁷.

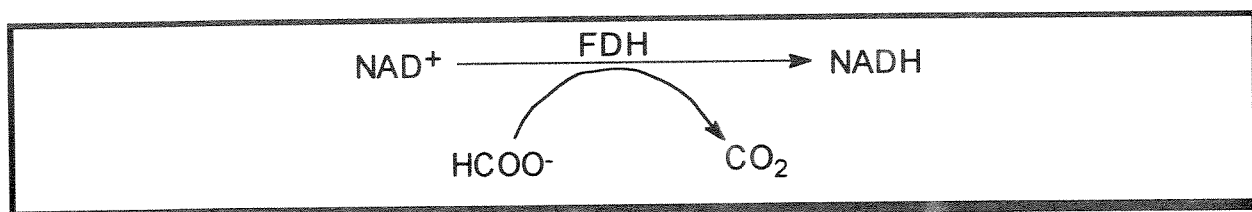


FIGURA 5 - Sistema Formiato/ Formiato desidrogenase (FDH).

Entre as principais vantagens deste sistema temos que o formiato é um forte agente redutor; o CO_2 não inativa ou inibe enzimas e não dificulta o isolamento de produtos; o sistema utiliza apenas uma enzima.

Como principais desvantagens deste sistema temos: o custo da FDH (US\$ 65/100U onde 1U = 1 μmol de NAD^+ consumido/ min) e o fato desta enzima ser sensível a autooxidação. Além disso a FDH apresenta baixa atividade específica (3U/mg) e o sistema não aceita NADP^+ como substrato.

O **sistema Etanol/ Álcool desidrogenase (ADH)/ Aldeído desidrogenase (AldDH)** pode ser utilizado para regenerar tanto NADH quanto NADPH. Este sistema pode gerar dois equivalentes de coenzima reduzida por equivalente de etanol³⁸ (Figura 6).

Este sistema apresenta as seguintes vantagens: o sistema acoplado é fortemente redutor; o acetato gerado não dificulta o isolamento dos produtos; as enzimas utilizadas tem altas atividades específicas: 400 U/mg para ADH atuando sobre a oxidação do etanol e 80 U/mg para AldDH atuando sobre a oxidação do acetaldeído.

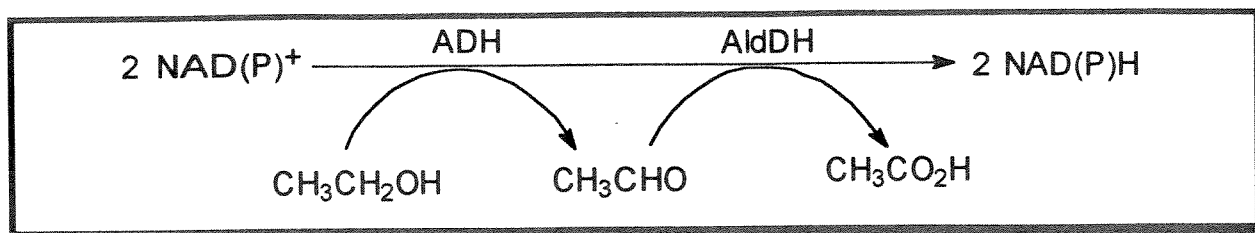


FIGURA 6 - Sistema Etanol/ Álcool desidrogenase (ADH)/ Aldeído desidrogenase (AldDH)

As desvantagens deste sistema são: a necessidade de se utilizar duas enzimas; o acetaldeído desativa muitas enzimas; a AldDH não é muito barata (US\$ 140/1000 U) e tem que ser utilizada em excesso. Esta enzima além de ser mais sensível é mais reativa em relação à NAD⁺ que à NADP⁺.

Um sistema semelhante ao mencionado acima e que funciona bem para regenerar NADH é o sistema Metanol/ Álcool desidrogenase (ADH)/ Aldeído desidrogenase (AldDH)/ Formiato desidrogenase (FDH). Este sistema pode regenerar 3 equivalentes de NADH por equivalente de metanol²² (Figura 7).

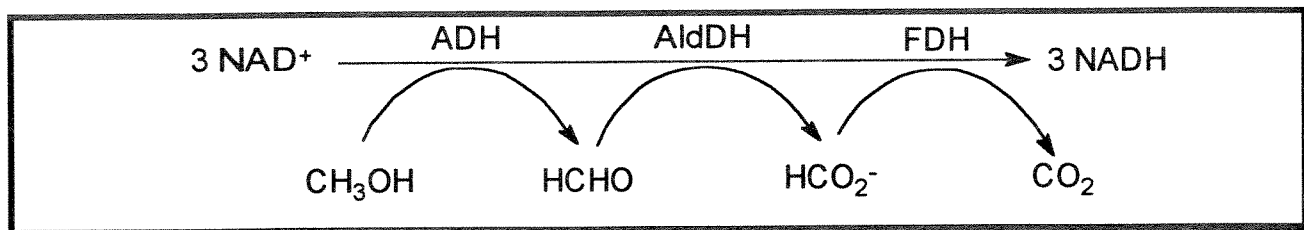


FIGURA 7 - Sistema Metanol/Álcool desidrogenase (ADH)/Aldeído desidrogenase (AldDH)/Formiato desidrogenase (FDH).

Como vantagens deste sistema temos: as enzimas são comercialmente disponíveis; o CO₂ formado não desativa as enzimas nem dificulta o isolamento de produtos; o metanol é um agente redutor barato.

As desvantagens deste sistema são: a necessidade de utilizar de 3 enzimas; a ADH e AldDH são muito sensíveis à autooxidação; as atividades específicas das enzimas são apenas moderadas para metanol, formaldeído e formiato.

O desenvolvimento de microorganismos, por técnicas de DNA recombinante, com altos conteúdos das duas ou três enzimas necessárias para os dois últimos sistemas

mencionados, nas proporções corretas para um bom resultado, tornaria estes sistemas potencialmente econômicos para uso em síntese em grande escala.

O sistema **Glicose-6-fosfato (G-6-P)/ Glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH)**³⁹ (Figura 8), apresenta como principais vantagens o emprego de apenas uma enzima a qual é estável, pode ser imobilizada e tem um preço acessível (US\$ 15/ 1000 U). Além disso, apresenta altas atividades específicas 700 U/mg para NAD^+ e 500 U/mg para NADP^+ .

As desvantagens deste sistema são: o 6-fosfogluconato pode dificultar o isolamento dos produtos; a glicose-6-fosfato e o 6-fosfogluconato catalisam a decomposição de NAD(P)H .

Um sistema que pode ser utilizado também é o sistema **Glicose/Glicose desidrogenase (GDH)**⁴⁰ (Figura 9). As vantagens apresentadas por este sistema são: a GDH é termicamente estável, comercialmente disponível e pode ser imobilizada. Adicionalmente, glicose é inócua às enzimas e a NAD(P)H .

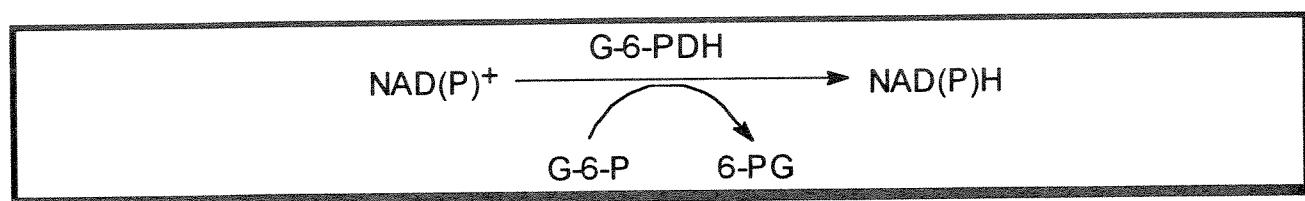


FIGURA 8 - Sistema Glicose-6-fosfato (G-6-P)/ Glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH), 6-PG = 6-fosfogluconato.

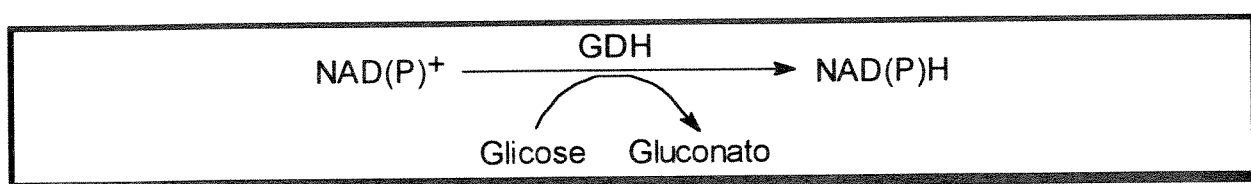


FIGURA 9 - Sistema Glicose/ Glicose desidrogenase (GDH).

As desvantagens apresentadas por este sistema são: o preço da GDH (US\$ 160/1000 U); o gluconato formado pode dificultar o isolamento dos produtos.

Embora estes dois últimos sistemas mencionados sejam os melhores para regenerar NADPH , pode-se dizer que falta na literatura o desenvolvimento de um método barato para

a regeneração desta coenzima que se compare ao sistema Formiato/ FDH utilizado para a regeneração de NADH⁴¹.

Para finalizar gostaria de mencionar um sistema interessante de regeneração pela sua simplicidade, o qual é empregado nas reações catalisadas por TBADH, LKADH e PSADH. Este sistema utiliza a enzima tanto para catalisar a reação de oxidação de propanol 2 a acetona regenerando a coenzima (NAD(P)H), como para catalisar a redução estereoespecífica de cetonas proquirais^{42,43,44}(Figura 10).

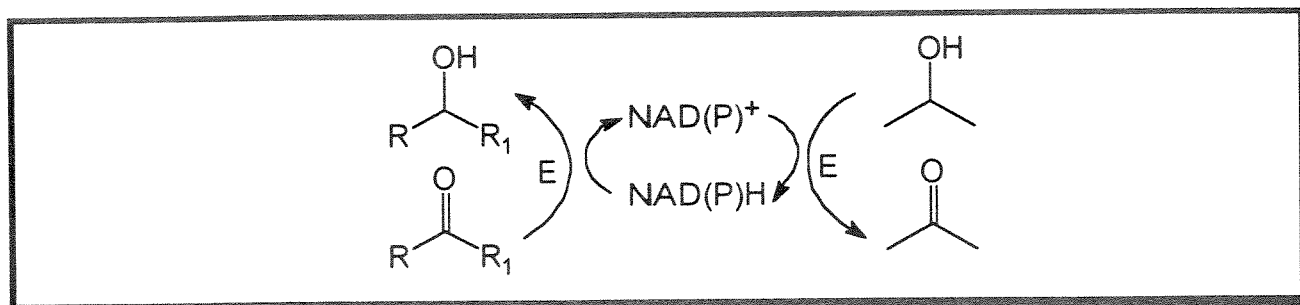


FIGURA 10 - Sistema regenerador das coenzimas NAD(P)H que utiliza propanol 2 como substrato. Este sistema tem sido usado na redução estereoespecífica de cetonas proquirais, onde E pode ser qualquer uma das seguintes desidrogenases: TBADH (*Thermoanaerobium brockii* álcool desidrogenase) - NADPH, LKADH (*Lactobacillus kefir* álcool desidrogenase) - NADPH ou PSADH (*Pseudomonas sp* álcool desidrogenase) - NADH.

1.3.3 - Mecanismo das Reduções Assimétricas Enzimáticas:

Cálculos teóricos⁴⁵ e dados experimentais⁴⁶ sugerem que as reduções enzimáticas de um modo geral envolvem uma transferência direta de hidreto da posição 4 do anel piridínico das coenzimas NAD(P)H para o substrato, mediada por uma desidrogenase.

Assumindo-se que a redução aconteça através de um mecanismo ordenado⁴⁷, inicialmente ocorre a formação de um complexo binário E-NAD(P)H entre a enzima e coenzima. Subsequentemente o composto carbonílico proquiral A se liga com igual probabilidade ($k_1 = k'_1$) ao complexo E-NAD(P)H pela face *Re* ou *Si* (A e A') para gerar dois complexos ternários E-NAD(P)H-A e E-NAD(P)H-A'. Estes dois complexos estão ligados com diferentes graus de firmeza ($k_1 \neq k'_{-1}$) e podem então sofrer a redução catalítica para originar outros dois complexos ternários E-NAD(P)⁺-R e E-NAD(P)⁺-S, os quais se

dissociam nos produtos R e S e no complexo binário E-NAD(P)⁺ o qual posteriormente também se dissocia em seus componentes (Figura 11).

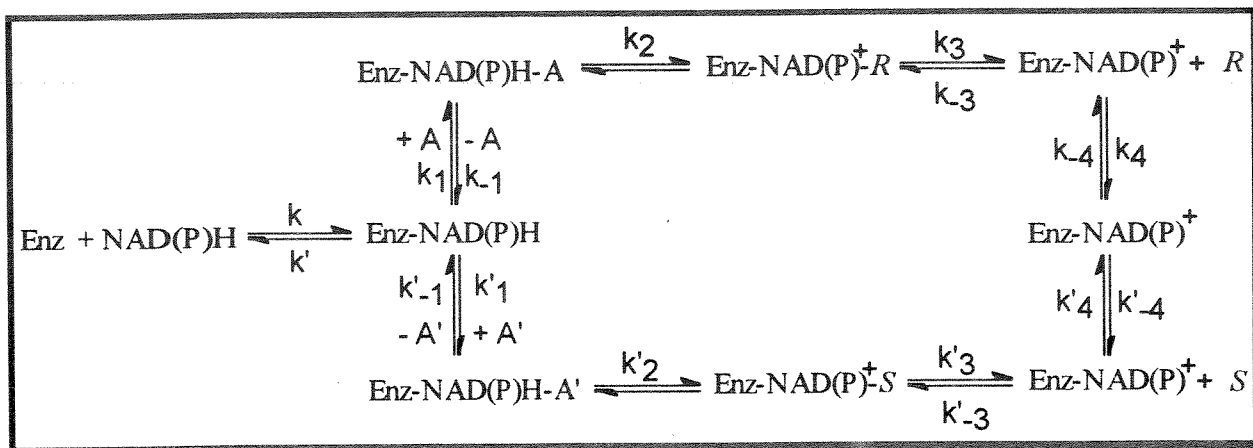


FIGURA 11 - Mecanismo de reação para reduções catalisadas por enzimas. E = enzima, A e A' = faces enantiotópicas do substrato.

Uma rápida interconversão dos complexos ternários diastereoisoméricos E-NAD(P)H-A e E-NAD(P)H-A' comparada às velocidades do próximo passo catalítico (k_3 ou k'_3), resultará numa redução altamente enantiosseletiva.

1.3.3.1 - Estereoespecificidade de Desidrogenases NAD(P)H Dependentes:

Existem duas classes de desidrogenases; aquelas que transferem o hidrogênio pró-R da posição 4 do anel piridínico da coenzima reduzida, e aquelas que transferem o hidrogênio pró-S (Figura 12). As primeiras são chamadas de enzimas A-específicas e as últimas de B-específicas.

Estudos utilizando RMN e cristalografia de raios X de várias desidrogenases ligadas a NAD⁺, sugerem que com enzimas A-específicas a coenzima se liga ao sítio ativo da enzima numa conformação anti entre a ligação nicotinamida glicosídica e o grupo amida e numa conformação syn com enzimas B-específicas. Sugere-se que todas as desidrogenases apresentam esta característica.

Existem algumas hipóteses que tentam explicar esta diferença na estereoespecificidade das enzimas⁴⁸.

Uma proposta sugere que este fato é um acidente histórico. As enzimas que tem a mesma estereosseletividade devem ter evoluído de um único progenitor enzimático e ter

homogeneidade estrutural. Como há duas famílias de enzimas com estereoespecificidades opostas, os autores sugerem que todas as desidrogenases são derivadas de dois precursores, os quais tem diferentes estereosseletividades e que durante a evolução enzimática houve conservação da estereosseletividade.

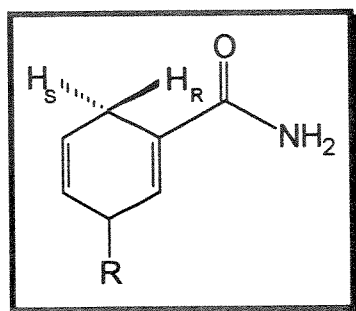
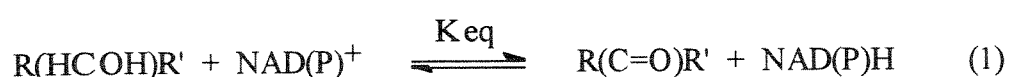


FIGURA 12 - Estereoespecificidade de desidrogenases na transferência do hidrogênio pró-*R* ou pró-*S* das coenzimas NAD(P)H.

Outra hipótese que é consistente com a proposição acima, está relacionada com a estereoespecificidade de desidrogenases de álcoois e polióis. A família contendo zinco como subunidade de maior peso molecular é A-específica e a família sem zinco e com subunidade de peso molecular mais baixo é B-específica.

Benner e colaboradores⁴⁹, observaram uma correlação entre as estereoespecificidades de algumas desidrogenases e a constante de equilíbrio para a reação enzimática (equação 1).



A partir desta observação eles postularam que compostos carbonílicos reativos ($K_{eq} < 10^{-11,2}$) são reduzidos com o hidrogênio pró-*R* da coenzima reduzida enquanto que compostos carbonílicos termodinamicamente mais estáveis ($K_{eq} > 10^{-11,2}$) são reduzidos com o hidrogênio pró-*S*.

Esta proposição deu origem a muita controvérsia na literatura. Wu e Houk⁴⁸ através de cálculos teóricos de sistemas modelares para NADH apoiam a teoria de Benner, enquanto que outros^{50,51} discordam dela. Recentemente Bruice e Almarsson⁵² publicaram um artigo onde também discordam da proposição de Benner.

1.3.4 - Regra de Prelog⁵³:

Prelog observou que extratos livres de células de *Curvularia falcata* e culturas deste microorganismo eram capazes de reduzir cetonas alicíclicas com a mesma estereoespecificidade.

Ao comparar a configuração dos álcoois obtidos neste processo ele sugeriu que a estereoespecificidade da redução poderia ser representada por um esquema simples mostrado na (Figura 13).

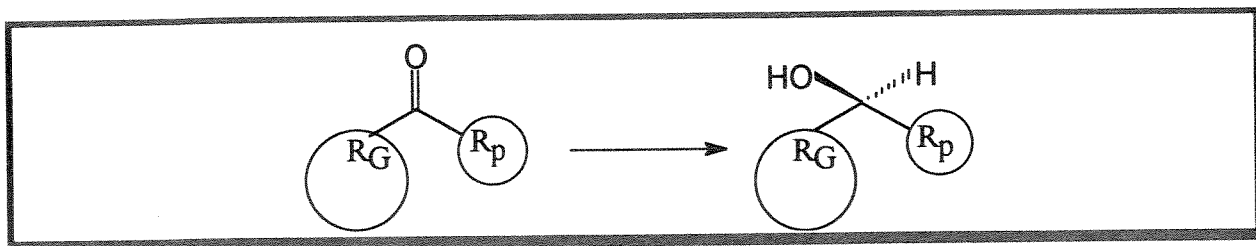


FIGURA 13 - Regra de Prelog para biotransformações de compostos carbonílicos. R_G = grupo grande e R_p = grupo pequeno.

Nesta figura os grupo R_G e R_p adjacentes à carbonila representam respectivamente grupos grande e pequeno. O curso estereoquímico da reação ocorre via transferência de hidrogênio para a face *Re* da cetona proquiral. A sequência de prioridade para assinalar as configurações das faces enantiotópicas da carbonila é a seguinte: $O > R_G > R_p$.

Entretanto é necessário uma certa cautela; pois ao utilizar a convenção de Cahn-Ingold-Prelog para assinalar a configuração absoluta dos álcoois resultantes da redução o grupo grande, R_G , pode não ter necessariamente maior prioridade que o grupo pequeno, R_p , quando forem aplicadas as regras de sequência propostas por esta convenção.

Embora a regra de Prelog seja uma regra empírica, a maioria das desidrogenases comercialmente disponíveis utilizadas na redução estereoespecífica de compostos carbonílicos assim como grande parte dos microorganismos e entre eles o fermento de pão, seguem esta regra. Contudo, algumas poucas exceções foram encontradas em relação a sistemas celulares intactos o que sugere um certo cuidado ao aplicar esta regra a estes sistemas.

1.4 - Reduções Assimétricas Microbiológicas:

1.4.1 - Considerações Gerais:

A redução assimétrica de compostos carbonílicos por microorganismos é reconhecidamente um método valioso para a preparação de álcoois quirais de excelente pureza óptica.

As considerações feitas nos itens anteriores para enzimas também se aplicam aqui; a única diferença é que agora as enzimas fazem parte de um complexo sistema celular.

Os microorganismos se adaptam muito bem a novos ambientes e apresentam altas velocidades de crescimento, o que facilita o seu manuseio e cultivo em grande escala sem um custo alto.

Como citamos anteriormente os microorganismos são fontes naturais de um grande número de oxidoredutases contendo adicionalmente as coenzimas necessárias às reações de redução e os caminhos metabólicos para promover a sua regeneração.

Esta é uma das grandes vantagens de se utilizar microorganismos ao invés de enzimas isoladas pois as células realizam o processo de regeneração de coenzimas automaticamente ao passo que com enzimas isoladas, como já vimos, é necessário empregar sistemas regeneradores *in situ*.

Apesar das vantagens oferecidas por microorganismos, um argumento comum contra a sua utilização em relação ao uso de enzimas puras é que as reações mediadas por microorganismos costumam ser muito sujas, pois o caldo fermentativo contém massa celular, nutrientes, metabólitos usuais, e o substrato, o qual poderia ser transformado em mais de um produto. A recuperação do produto e do material de partida que não reagiu poderia não ser direta ou quantitativa sendo necessária uma purificação.

Contudo, se a biotransformação for aplicada a materiais de partida baratos logo no início de uma síntese, produzindo um intermediário sintético altamente funcionalizado com excelente pureza óptica; a adoção de uma metodologia de extração apropriada conduziria a uma grande recuperação de produto e neste caso um processo de purificação posterior seria um inconveniente muito pequeno comparado ao benefício obtido.

Sih e Chen⁴⁷, comentam que um dos problemas que ocorrem quando se utiliza células intactas na redução catalítica de cetonas, é que o processo é algumas vezes parcialmente enantiosseletivo. Isto pode ser interpretado de duas maneiras:

- A cetona pode ser reduzida por uma única oxidoredutase que interage com ambas as faces do grupo carbonila, formando dois estados de transição diastereoisoméricos, um mais favorecido do que o outro.
- Podem estar presentes duas ou mais oxidoredutases que competem entre si, podendo gerar álcoois de configurações opostas a velocidades diferentes.

As duas possibilidades mencionadas acima podem ser distintas uma da outra conduzindo-se a redução em diferentes concentrações de substrato. No primeiro caso a enantiosseletividade da redução é independente de mudanças na concentração do substrato, enquanto que isto não ocorre no segundo caso. Na experiência destes autores, todas as reduções parcialmente enantiosseletivas em células intactas emanam da ação combinada de enzimas competitivas com preferências estereoquímicas opostas.

Nas reduções assimétricas de compostos carbonílicos por microorganismos é essencial para uma redução contínua que se empregue açúcares como glicose ou sacarose como substratos auxiliares. Estes carboidratos ao serem metabolizados pela célula promovem a redução das coenzimas NAD(P)^+ através da oxidação da glicose via glicose-6-fosfato (Figura 14).

Entretanto, a utilização de açúcares como doadores de elétrons apresenta alguns problemas. Entre eles a formação de acetaldeído o qual compete com a redução de cetonas pelos equivalentes de redução, além de ser desativante para muitas enzimas.

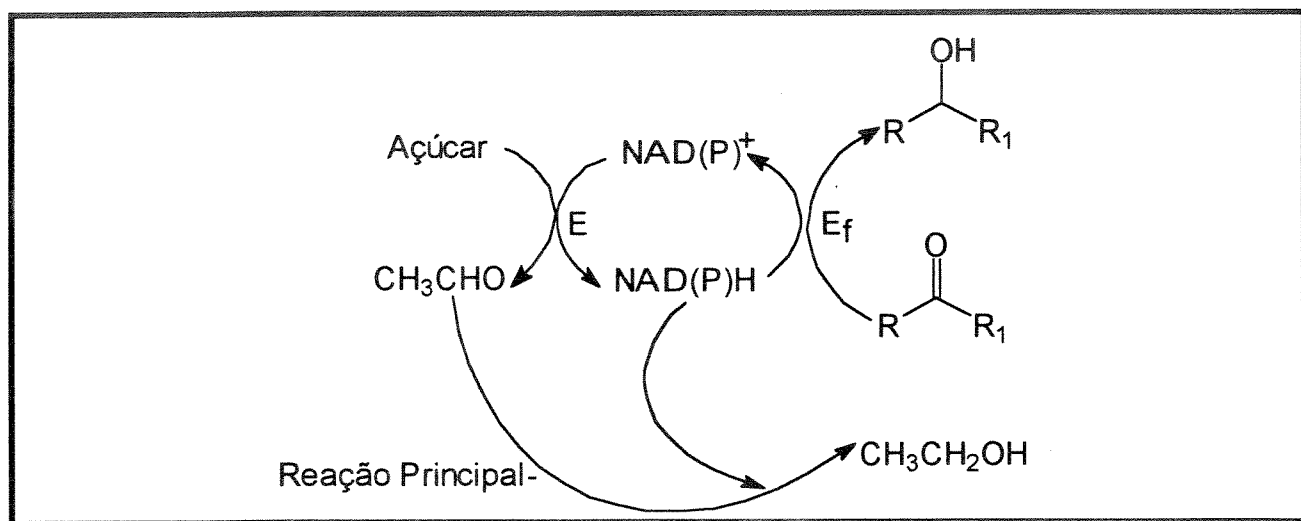


FIGURA 14 - Sistema regenerador das coenzimas NAD(P)H pelo complexo enzimático de um microorganismo. E = complexo enzimático, E_f = desidrogenase(s).

Neste sistema, a quantidade de etanol formada é muito grande (200-2000 moles de etanol por mol de cetona reduzida), o que impede que derivados voláteis sejam obtidos com um alto grau de pureza utilizando-se técnicas como destilação fracionada ou cromatografia gasosa preparativa.

A necessidade de se utilizar uma aparelhagem volumosa e a dificuldade no isolamento de pequenas quantidades de produto contido em grandes quantidades de caldo fermentativo, são outros problemas decorrentes do emprego de açúcar..

Simon e colaboradores⁵⁴, sugerem que o etanol poderia ser um melhor doador de elétrons para os microorganismos que os açúcares.

Kometani e colaboradores⁵⁵ empregaram etanol como fonte de energia na redução de cetonas proquirais por fermento de pão e sugerem que NADPH é regenerado através do caminho oxidativo do etanol na presença de oxigênio. Estes autores assumem que um sistema semelhante ao sistema etanol/ álcool desidrogenase/ aldeído desidrogenase esteja ativo em células de fermento do pão.

Os resultados obtidos empregando-se etanol foram comparados com os resultados obtidos empregando-se glicose e os autores concluíram que nos dois casos a configuração absoluta dos álcoois quirais obtidos foi a mesma com rendimentos ópticos similares.

Torre e colaboradores⁵⁶ sugeriram que cetonas podem ser reduzidas assimetricamente pelo fermento de pão sem a adição de açúcar ou qualquer outro doador de elétrons utilizando-se um grande excesso de material celular suspenso em uma pequena quantidade de água.

Eles compararam os resultados obtidos através dos dois métodos: com adição de açúcar e sem adição de açúcar e concluíram que a porcentagem de redução juntamente com o excesso enantiomérico dos álcoois obtidos eram muito próximos nos dois casos. Entretanto, as reduções feitas na ausência de açúcar se mostraram mais vantajosas nos seguintes aspectos: obtenção de um alto rendimento do álcool num tempo mais curto (4-24 h); como o processo fermentativo não é muito vigoroso e além disso o volume do caldo é menor, pode-se utilizar uma aparelhagem menos volumosa, com extração do produto menos tediosa; o conteúdo de etanol no produto cru de reação não excede 20% facilitando a purificação de produtos voláteis pelas técnicas usuais.

De acordo com Nakamura e colaboradores⁵⁷, o poder redutor do fermento de pão sem a adição de qualquer fonte de energia externa é decorrente do fato deste microorganismo ter alguns sacarídeos presentes em suas células, os quais podem produzir NADPH ao longo do caminho da pentose fosfato.

Em um trabalho mais recente, Kometani e colaboradores⁵⁸ sugeriram que NADPH pode ser regenerado em reduções assimétricas de cetonas proquirais mediadas por fermento de pão, utilizando-se acetato, na forma de acetato de sódio, como fonte de energia. De acordo com estes autores, este sistema ainda não foi proposto na literatura para estas biorreduções.

Comparou-se os resultados obtidos usando-se acetato de sódio com os resultados obtidos utilizando-se glicose e etanol e concluiu-se que os diferentes procedimentos não afetaram a estereoquímica da redução e além disso as medidas de rotação óptica dos álcoois quirais obtidos pelos três métodos apresentaram valores bem próximos entre si.

Estes autores ainda sugerem que as reações para regeneração de NADPH provavelmente ocorram na célula do fermento de pão via o caminho oxidativo do etanol a dióxido de carbono.

1.4.2. - Fermento de Pão (*Saccharomyces cerevisiae*):

O fermento de pão encontra-se entre os microorganismos mais utilizados por químicos orgânicos em biotransformações de óxido-redução. Isto se deve em parte ao conservantismo dos químicos orgânicos, mas também reflete o fato que o fermento de pão fornecido comercialmente em padarias e supermercados possui os atributos exigidos por estes pesquisadores, os quais incluem a pronta disponibilidade, estabilidade, versatilidade, baixo custo, simplicidade no manuseio, não havendo necessidade de se utilizar qualquer equipamento especial ou o conhecimento de técnicas bioquímicas ou microbiológicas, como seria o caso no emprego de qualquer outro microorganismo⁵⁹.

A utilização do fermento de pão em reduções assimétricas foi recentemente publicada em três artigos de revisão que cobriram de forma exaustiva os vários aspectos da utilização deste microorganismo^{60,61,62}.

A ação redutora do fermento de pão foi primeiramente observada por Dumas em 1874 quando ao adicionar enxofre em pó a uma suspensão fresca de fermento e açúcar, ele verificou a liberação de sulfeto de hidrogênio. Em 1898, também foi relatado a redução de furfural a álcool furfurílico pelo fermento de pão. Em 1921, Neuberg e Hirsch relataram a condensação de benzaldeído com acetaldeído induzida por fermento de pão produzindo (-)-1-hidroxi-1-fenil-2-propanona o qual serviu de intermediário na síntese de (-)-efedrina, que veio a ser uma das primeiras transformações microbiais a ser comercializada.

O fermento de pão é um microorganismo bastante resistente capaz de se desenvolver numa faixa de pH ampla, 2,4-8,6, sendo que o pH ótimo para o crescimento estaria por volta de 4,5. Ele também pode crescer dentro de uma faixa de temperatura grande, 5-37 °C sendo que 25 °C seria a temperatura ótima para o crescimento^{63,64}.

Nos últimos anos, vários relatos publicados na literatura tem contribuído para uma melhor compreensão dos fatores que governam a estereosseletividade nas reduções com fermento de pão. Sabe-se que tanto a natureza do substrato quanto as condições da reação, contribuem decisivamente na obtenção de álcoois quirais com a configuração desejada,

associada a bons rendimentos químicos e ópticos^{65,66}. Para químicos orgânicos, modificar a estrutura do substrato é uma tarefa bem mais simples que procurar entre os vários microorganismos existentes um que seja apropriado para obter um composto com determinada configuração⁶⁷. Informações a respeito dos substratos naturais para as enzimas do fermento de pão, também são de grande importância na seleção de características estruturais para substratos não naturais.

O conhecimento sobre a atividade específica do fermento de pão ainda é muito limitada, pois há poucos trabalhos que comparam a atividade de enzimas puras isoladas do fermento com aquela observada para o sistema celular intacto^{68,69,70,71,72,73}. Entretanto, trabalhos publicados nesta área são essenciais para uma melhor compreensão do processo biorredutivo de forma a otimizar a enantiosseletividade deste processo, e deve ser uma tendência para o futuro a fim de que as biotransformações com fermento de pão possam ser melhor exploradas.

1.4.3 - Imobilização de Células:

Um biocatalisador imobilizado é aquele cuja mobilidade foi restrita por métodos físicos ou químicos⁷⁴. Esta limitação artificial da mobilidade do biocatalisador pode ser feita através de várias maneiras, entre elas podemos citar a técnica de imobilização por adsorção.

A imobilização de biocatalisadores apresenta como principais vantagens a facilidade para o isolamento dos produtos de reação, a possibilidade de reutilização do biocatalisador, em muitos casos, a diminuição dos tempos de reação e ainda um aumento na estabilidade operacional do microorganismo.

A adsorção é o método mais antigo e o mais simples para imobilizar células (ou enzimas) em um suporte insolúvel em água. No processo de adsorção os biocatalisadores são mantidos na superfície do suporte por forças físicas (forças de van der Waals). Contudo, nesta interação entre o suporte e o biocatalisador também podem estar envolvidas forças adicionais como pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas e ligações iônicas heteropolares, de forma que é muito difícil chegar a uma definição clara dos mecanismos de adesão de células intactas.

As características mais atraentes da técnica de adsorção são a simplicidade e suavidade do procedimento. De fato, para estabelecer uma ligação adsortiva basta misturar o suporte com uma suspensão aquosa de células por algum tempo. Uma vez que o suporte é inerte e não temos nenhum reagente químico adicional envolvido no processo, a imobilização é conduzida sob as mesmas condições fisiológicas nas quais as células são

mantidas em suspensão. Neste caso, as perdas na atividade catalítica enzimática devidas ao processo de imobilização são mínimas⁷⁵.

Quando se utiliza biocatalisadores imobilizados por adsorção é muito importante manter constante os parâmetros da reação. Isto porque uma desvantagem desta técnica é a fraqueza relativa das forças de adesão, onde qualquer mudança nas condições de reação (concentração de substrato, pH, temperatura, etc.), pode ocasionar a dessorção do biocatalisador.

Os suportes para imobilização podem ser selecionados entre uma grande variedade de substâncias orgânicas e inorgânicas naturais e também entre polímeros sintéticos.

Os argilominerais são materiais muito promissores para a utilização como suportes para a adesão de microorganismos, pois podem oferecer uma grande área superficial, além de uma grande capacidade de troca de cátions, sendo também uma fonte rica de nutrientes minerais e orgânicos às células microbiais aderidas, promovendo o seu crescimento.

Estes minerais são partículas de pequenas dimensões constituídas por silicatos de alumínio. Estruturalmente eles podem ser formados por folhas, planos ou camadas contínuas de tetraédros SiO_4 ordenados de forma hexagonal condensados com folhas ou camadas octaédricas⁷⁶.

Crisotila e montmorilonita são alguns tipos de argilominerais. Crisotila apresenta uma estrutura em camada (1:1) e montmorilonita uma estrutura também em camada (2:1), (esta nomenclatura 1:1 e 2:1 se refere ao número de camadas de tetraedros SiO_4 e de octaédros de hidróxidos respectivamente, que entram na constituição da cela unitária do retículo cristalino do argilomineral).

A crisotila é um material de aplicações diversas. Tem sido utilizada na indústria de fibrocimento, a maior consumidora deste material; na clarificação de fermentados alcoólicos para a fabricação de vinhos, cervejas e outras bebidas; na produção de vacinas com filtros esterilizantes e apirogênicos na indústria farmacêutica e alimentícia⁷⁷.

De acordo com Parizotto⁷⁷ a crisotila apresenta uma grande área superficial específica e alta densidade de sítios adsorventes. Ele estudou as propriedades da crisotila como suporte para fermento de pão e observou que as células mostram uma boa fixação ao suporte e que o processo de imobilização não diminui a atividade das células.

A montmorilonita, além de grande área superficial, apresenta uma alta capacidade de troca de cátions (800-1200 $\mu\text{eq/g}$) e em um ambiente aquoso incha de forma acentuada.

A montmorilonita K10 é um catalisador ácido altamente seletivo e eficiente para vários tipos de reações, como por exemplo na alquilação de Friedel-Crafts; desalquilação de compostos aromáticos, na isomerização de alquil benzenos e cloração aromática eletrofílica.

A montmorilonita K10 pode também ser usada no lugar de ácidos minerais na esterificação de ácidos carboxílicos e na conversão de cetonas a enaminas⁷⁸.

Recentemente, Sarkar e colaboradores^{79,80} relataram o uso de montmorilonita K10 como suporte de um borodreto quirál para a redução estereosseletiva de cetonas.

A montmorilonita também tem sido aplicada na indústria petrolífera e em técnica cromatográfica industrial para a eluição de vitamina B₁₂⁸¹ e além disso foi empregada na produção de acetona e butanol sob a forma de suporte sólido para *Clostridium acetobutylicum*⁸² e também para a adsorção de fermentos para a produção de vinhos⁸³.

As propriedades mencionadas para crisotila e montmorilonita associadas ao baixo custo destes materiais, boa disponibilidade e facilidade de manuseio, mostram a potencialidade destes argilominerais como suportes para biocatalisadores em reduções assimétricas.

1.5 - Métodos Analíticos para Determinação da Pureza Enantiomérica:

A enantiosseletividade de uma transformação pode ser expressa através da pureza óptica (*po*), Equação 2, ou do excesso enantiomérico (*ee*), Equação 3. Nos casos em que a rotação óptica máxima de um certo enantiômero é conhecida, então a pureza óptica iguala-se ao excesso enantiomérico⁸⁴. A diferença básica entre estas duas grandezas é que a pureza óptica baseia-se em métodos polarimétricos clássicos, os quais estão sujeitos a algumas incertezas, ao passo que excesso enantiomérico baseia-se em técnicas como RMN, cromatografia gasosa (CG) ou líquida (CLAE), as quais de acordo com a literatura⁸⁵, são mais precisas.

$$po = \frac{[\alpha] \text{ mistura}}{[\alpha] \text{ enantiômero puro}} \times 100 \quad (2)$$

$$ee = \frac{[R] - [S]}{[R] + [S]} \times 100 \quad (3)$$

A rotação óptica de uma substância em um determinado comprimento de onda é uma propriedade física importante para o estudo de um sistema quirál⁸⁶. Isto porque ela permite que se relacione os dados obtidos àqueles acumulados na literatura científica, possibilitando a identificação desta substância e também como já dissemos, a determinação da sua pureza enantiomérica.

As principais vantagens em medir-se a rotação óptica de uma amostra em relação a outros métodos dizem respeito ao baixo custo da instrumentação; facilidade para adquirir a medida e recuperar a amostra após a realização da mesma. A comparação das medidas de rotação óptica da amostra com os dados de compostos conhecidos é a maneira mais fácil e rápida de assinalar a configuração de uma determinada substância.

A rotação óptica costuma ser representada da seguinte forma:

$$[\alpha]_{\lambda}^t = \frac{\alpha}{lc} \quad (4)$$

Onde os parâmetros da medida são:

α = medida do ângulo de rotação do plano da luz polarizada em graus

t = temperatura

λ = comprimento de onda

l = comprimento da cela em dm

c = concentração em g/100ml.

Para que a magnitude de rotação óptica de uma certa amostra possa ser comparada de maneira confiável com os dados publicados na literatura é necessário que os parâmetros utilizados para a medida sejam iguais ou muito próximos aos parâmetros da medida que se quer comparar, pois a medida de rotação óptica pode variar com a temperatura, concentração da amostra, comprimento de onda e com o solvente empregado para dissolver a amostra.

Compostos com pequenos valores de rotação óptica, na presença de uma impureza com um grande valor de rotação óptica pode gerar uma pureza óptica enganosa. A dificuldade em saber se os valores de rotação óptica publicados na literatura são confiáveis ou não, são outros problemas decorrentes desta técnica.

Apesar dos problemas mencionados, a medida de rotação óptica de uma amostra é um método bastante conveniente pelas vantagens já mencionadas e uma vez observados os cuidados relativos aos parâmetros da medida, pode-se obter um valor de pureza óptica bastante satisfatório.

Nos últimos 5 anos grandes progressos foram feitos em relação ao desenvolvimento de métodos de análise mais sensíveis e precisos para CG e CLAE. No controle de qualidade de produtos farmacêuticos e de química fina, os métodos baseados em CG são preferidos porque são mais precisos que métodos baseados em RMN.

A determinação do excesso enantiomérico usando-se técnicas de RMN, requer a utilização de um auxiliar quiral que converta a mistura de enantiômeros em uma mistura

diastereoisomérica. Os diastereoisômeros desta mistura devem apresentar diferentes deslocamentos químicos dos sinais, os quais ao serem integrados dão uma medida direta da composição diastereoisomérica que está diretamente relacionada à composição enantiomérica da mistura original.

Há três tipos de auxiliares quirais que são utilizados: reagentes de deslocamento quiral lantanídeos (CLSR), agentes quirais de solvatação e agentes para derivatização quiral. Os dois primeiros formam complexos diastereoisoméricos *in situ* com substratos enantioméricos e podem ser usados diretamente. O último tipo requer a formação separada dos diastereoisômeros antes da análise por RMN, devendo-se evitar que ocorra resolução cinética ou racemização do agente derivatizante durante a derivação.

A adição de um CLSR a um composto orgânico pode resultar em deslocamentos das ressonâncias para campos baixo ou alto, cuja dimensão é determinada pela distância de um certo tipo de próton do grupo doador. Entre os CLSR o derivado de Tris[3-(heptafluoropropilhidroximetileno)-(+)-canforato de európio III, (Eu(hfc)₃) (1), é um dos mais utilizados (Figura 15).

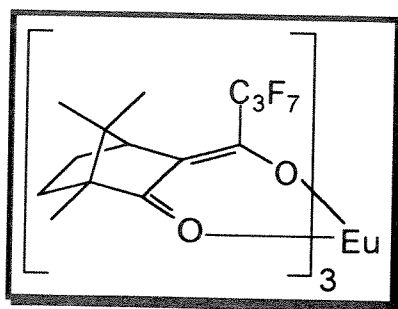


FIGURA 15 - Reagente de deslocamento quiral (+)-Eu(hfc)₃ (1) usado para determinação de excesso enantiomérico.

I.6 - Referências Bibliográficas:

- ¹De Camp, W. H. *Chirality* **1989**, *1*, 2.
- ²Hermansson, H. J. *Chromatography* **1984**, *67*, 298.
- ³Stinson, S. C. *Chem. Eng. News* **1992**, *70*, 46.
- ⁴Margolin, A. L. *CHEMTECH* **1991**, *21*, 3, 161.
- ⁵Sheldon, R. *Chem. Ind.* **1990**, 212.
- ⁶Deutsch, D. H. *CHEMTECH* **1991**, *21*, 3, 157.
- ⁷Patel, M. *Eur. Chem. News* **1992**, 18.
- ⁸Crossley, R. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 8155.
- ⁹Crosby, J. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 4789.
- ¹⁰Bevinakatti, H. S.; Banerji, A. A. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5372.
- ¹¹Chan, A. S. C. *CHEMTECH* **1993**, *23*, 3, 46.
- ¹²Sih, C. J.; Gu, Q-M; Fulling, G.; Wu, S-H.; Reddy, D. R. *J. Ind. Microbiol.* **1988**, *29*, 221.
- ¹³Mori, K. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 3291.
- ¹⁴Scott, J. W. *Asymmetric Synthesis*, Morrison, J. D.; Scott, J. W., Eds., Academic Press: Orlando, **1984**, vol. 4, p. 9.
- ¹⁵Sheldon, R. A. *Manufacturing Chemist* **1992**, 20.
- ¹⁶Brown, H. C.; Park, W. S.; Cho, B T.; Ramachandran, P. V. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 5406.
- ¹⁷Midland, M. M. *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1553.
- ¹⁸Corey, E. J.; Bakshi, R K.; Shibata, S. *J. AM. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 5551.
- ¹⁹Corey, E J.; Bakshi, R K.; Shibata, S.; Chen, C.; Singh, V. K. *J. Am. Cem. Soc.* **1987**, *109*, 7925.
- ²⁰Corey, E. J.; Bakshi, R. K. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 611.

-
- ²¹Corey, E. J.; Link, J. O. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 6275.
- ²²Jones, J. B. *Comprehensive Organic Synthesis - Selectivity, Strategy & Efficiency in Modern Organic Chemistry*, Trost, B. M.; Fleming, I., Eds., Pergamon Press: Oxford, **1991**, vol. 8, p.183.
- ²³Roberts, S.; Turner, N. *New Sci.* **1990**, 126, 38.
- ²⁴Sheldon, R. A. *Chem. Ind.* **1992**, 903.
- ²⁵Yamada, H.; Shimizu, S. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 622.
- ²⁶Whitesides, G. M.; Akiyama, A.; Bednarski, M.; Kim, M J.; Simon, E. S.; Waldmann, H. *CHEMTECH* **1988**, 18, 10, 627.
- ²⁷Jones, J. B. *Tetrahedron* **1986**, 42, 3351.
- ²⁸Wong, C. H. *Science* **1989**, 244, 1145.
- ²⁹Gould, J. B. *Handbook of Enzyme Biotechnology*, Wiseman, A., Ed., John Wiley and Sons: New York, **1975**, cap. 2, p. 5.
- ³⁰Jones, J. B. *Asymmetric Synthesis*, Academic Press Inc.: **1983**, vol. 5 cap. 9 p. 309.
- ³¹Faber, K. *Biotransformations in Organic Chemistry* Springer-Verlag, Berlin: **1992**, p. 135.
- ³²Turner, N. J. *Nat. Prod. Rep.* **1989**, 6, 625.
- ³³Battersby, A. R.; Stauton, J. *Tetrahedron* **1974**, 30, 1707.
- ³⁴Whitesides, G. M.; Wong, C. H. *Angew. Chem Int. Ed. Engl.* **1985**, 24, 617.
- ³⁵Whitesides, G M.; Wong, C. H. ; Pollak, A. *Asymmetric Reactions and Processes in Chemistry*, Eliel, E. L.; Otsuka, S., Eds., **1982**, cap. 15, p. 206.
- ³⁶Whitesides, G. M.; Shaked, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 7104.
- ³⁷Wichmann, R.; Wandrey, C.; Buckmann, A. F.; Kula, M. R. *Biotechnol. Bioeng.* **1981**, 23, 2789.
- ³⁸Whitesides, G. M.; Wong, C. H. *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 2816.

-
- ⁴¹Ward, O. P.; Young, C. S. *Enzyme Microb. Technol.* **1990**, *12*, 482.
- ⁴²Keenan, E.; Hafeli, E. K.; Seth, K. K.; Lamed, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 162.
- ⁴³Bradshaw, C. W.; Hummel, W.; Wong, C. H. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 532.
- ⁴⁴Bradshaw, C. W.; Fu, H.; Shen, G. J.; Wong, C. H. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1526.
- ⁴⁵Verhoeven, J. W.; van Gerresheim, W.; Martens, F. M.; van de Kerk, S. M. *Tetrahedron* **1986**, *42*, 975.
- ⁴⁶Tanner, D. D.; Stein, A. R. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1642.
- ⁴⁷Sih, C. J.; Chen, C. -S. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 570.
- ⁴⁸Wu, Y.; Houk, K. N.; *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 2353.
- ⁴⁹Benner, S. A.; Nambiar, K. P.; Stauffer, D. M.; Kolodziej, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5886.
- ⁵⁰You, K. *Crit. Rev. Biochem.* **1984**, *17*, 313.
- ⁵¹Oppenheimer, N. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3032.
- ⁵²Bruice, T. C.; Almarsson, O. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 2125.
- ⁵³Prelog, V. *Pure App. Chem.* **1964**, *9*, 119.
- ⁵⁴Simon, H.; Bader, J.; Gunther, H.; Newmann, S.; Thanos, J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1985**, *24*, 539.
- ⁵⁵Kometani, T.; Kitatsuji, E.; Matsuno, R. *Chem. Lett.* **1989**, 1465.
- ⁵⁶Bucciarelli, M.; Forni, A.; Moretti, I.; Torre, G. *Synthesis* **1983**, *11*, 897.
- ⁵⁷Nakamura, K.; Inoue, K.; Ushio, K.; Oka, S.; Ohno, A. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2589.
- ⁵⁸Kometani, T.; Kitatsuji, E.; Matsuno, R. *Agric. Biol. Chem.* **1991**, *55*, 867.
- ⁵⁹Butt, S.; Roberts, S. M. *Chem. Br.* **1987**, 127.
- ⁶⁰Servi, S. *Synthesis* **1990**, 1.
- ⁶¹Csuk, R.; Glanzer, B. I. *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 49.
- ⁶²Santaniello, E.; Ferraboschi, P.; Grisenti, P.; Manzocchi, A. *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1071.

-
- ⁶³Prescott, S. C.; Dunn, C. G. *Industrial Microbiology*, 1949, McGraw-Hill, New York, 35.
- ⁶⁴Jones, R. P.; Pamment, N.; Greenfield, P. F. *Process Biochem.* **1981**, 42.
- ⁶⁵Seebach, D.; Ehler, J.; Giovannini, F.; Lamatsh, B. *CHIMIA* **1986**, 40, 172.
- ⁶⁶Nakamura, K.; Inoue, K.; Ushio, K.; Oka, S.; Ohno, A. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 2589.
- ⁶⁷Nakamura, K.; Ushio, K.; Oka, S.; Ohno, A. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 3979.
- ⁶⁸Zhou, B.; Gopalan, A. S.; VanMiddlesworth, F.; Shieh, W. R.; Sih, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 5925.
- ⁶⁹Shieh, W. R.; Gopalan, A. S.; Sih, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 2993.
- ⁷⁰Furuichi, A.; Akita, H.; Matsukura, H.; Oishi, T.; Horikoshi, K. *Agric. Biol. Chem.* **1985**, 49, 2563.
- ⁷¹Nakamura, K.; Kawai, Y.; Nakajima, N.; Ohno, A. *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 4778.
- ⁷²Nakamura, K.; Kawai, Y.; Miyai, T.; Honda, S.; Nakajima, N.; Ohno, A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1991**, 64, 1467.
- ⁷³Shieh, W. R.; Sih, C. J. *Tetrahedron: Asymmetry* **1993**, 4, 1259.
- ⁷⁴Hartmeier, W. *Immobilized Biocatalysts* Springer-Verlag: Berlin, **1988**, p. 14.
- ⁷⁵Klein, J.; Vorlop, K. D. *Imobilization Techniques-Cells*, in *Comprehensive Biotechnology*, Moo-Young, Ed., Pergamon Press: New York, **1985**, vol. 2, 204.
- ⁷⁶Santos, P. S. *Tecnologia de Argilas* Editora Edgard Blücher Ltda e Editora da Universidade de São Paulo: São Paulo, **1975**, vol 1.
- ⁷⁷Parizotto, O. *Crisotilas Naturais Brasileiras. Ativação da Superfície e Aplicação na Imobilização de Biocatalisadores*, Tese de Mestrado, **1989**, IQ-UNICAMP.
- ⁷⁸McKillop, A.; Young, D. W. *Synthesis* **1979**, 493.
- ⁷⁹Sarkar, A.; Rao, B. R. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 1247.
- ⁸⁰Sarkar, A.; Rao, B. R.; Konar, M. M. *Synth. Commun.* **1989**, 19, 2313.
- ⁸¹*Merck Index*, 11, 6168.
- ⁸²Welsh, F. W.; Williams, R. E.; Veliky, I. A. *Enzyme Microb. Technol.* **1987**, 9, 500.

⁸³Ageeva, N. M.; Merzhanian, A. A.; Sobolev, E. M. *Mikrobiologiya* **1985**, *54*, 830.

⁸⁴Mori, K. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 3233.

⁸⁵Parker, D. *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 1441.

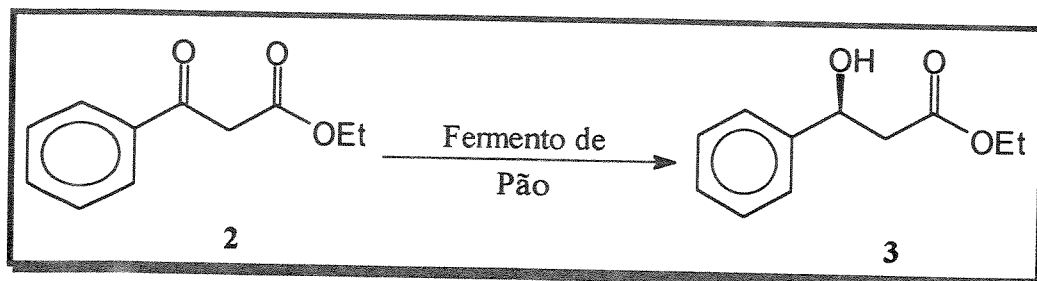
⁸⁶Lyle, G. E.; Lyle, R. E. *Asymmetric Synthesis*, Morrison, J. D., Ed., Academic Press, Inc.: San Diego, **1983**, vol. 1, p. 13.

II - OBJETIVO:

Tendo em vista as qualidades do fermento de pão (*Saccharomyces cerevisiae*) como "agente redutor", que atua sob condições de reação suaves, apresenta baixo custo, e está prontamente disponível, o objetivo deste trabalho é utilizar este microorganismo para reduzir assimetricamente compostos carbonílicos do tipo PhCOX (onde X pode ser COCH_3 , COPh , CO_2Et , $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$, CONH_2 , COCN , CHClCH_3 , CHBrCH_3 , CHN_3CH_3 , etc.), com a finalidade de se obter álcoois quirais ópticamente puros, os quais por sua vez possam apresentar utilidade como materiais de partida na síntese de compostos com atividade biológica.

III - RESULTADOS E DISCUSSÃO:

III.1 - Redução de Benzoilacetato de Etila (2) por Fermento de Pão:



ESQUEMA I

Preparamos o benzoilacetato de etila (2) de acordo com o método descrito na literatura¹. Os espectros de IV e RMN-¹H de 2 estavam de acordo com aqueles descritos na referência supracitada.

Submetemos 2 à redução por fermento de pão, a qual originou o 3-hidróxi-3-fenilpropionato de etila (3) cujos dados espectrais estão concordantes com os descritos na literatura².

Kenyon e col.³ atribuíram a configuração (R) ao centro quiral do (+)-3 [α]_D²⁰ + 19,2° (c 1,0 CHCl₃). Por analogia a estes resultados, o hidróxiester (3) por nós obtido apresenta a configuração do centro quiral oposta, ou seja, (S) devido ao sinal de rotação óptica apresentado pelo mesmo: [α]_D²⁰ - 41,0° (c 1,6 CHCl₃) para o hidróxiester obtido através do método A e [α]_D²⁰ - 44,8° (c 1,3 CHCl₃) para o hidróxiester obtido através do método B.

Ridley e col.² reduziram 2 com fermento de pão por um método semelhante ao método A obtendo 3 em 70 % de rendimento, o qual apresentou [α]_D²⁰ - 25,8° (c 1,3 CHCl₃). Estes autores baseando-se no valor de rotação óptica publicado por Kenyon e col. mencionados acima, consideraram o hidróxiester por eles obtido como enantioméricamente puro.

Entretanto o maior valor de rotação óptica publicado na literatura⁴ para 3 é [α]_D²² - 54,9° (c 3,5 CHCl₃). Foi neste resultado que nós nos baseamos para calcular a pureza óptica (*po*) de 3, obtido através dos métodos A e B que constam da Tabela III.

Vale a pena mencionar que Soai e col.⁵ reduziram 2 com boroidreto de lítio quiral, obtendo 3, o qual apresentou [α]_D²² - 40,8° (c 1,3 CHCl₃) e para o qual os autores

determinaram um excesso enantiomérico (*ee*) de 86% através de RMN-¹H dos ésteres de Mosher correspondentes.

Tabela III - Resultados da Redução de 2 por Fermento de Pão.

Método ^a	<i>RQ</i> /%	<i>po</i> /%
A	49	75
B	30	82

^aMétodo A (Redução na presença de açúcar e sulfato de zinco), Método B (Redução sem aditivos).

Tendo em vista a observação acima é possível que os valores de pureza óptica da Tabela III estejam subestimados em relação ao rendimento óptico real nas reduções de 2 pelos métodos A e B.

Outros grupos de pesquisa^{6,7,8} reduziram 2 com fermento de pão e seus resultados não diferem de forma significativa dos nossos.

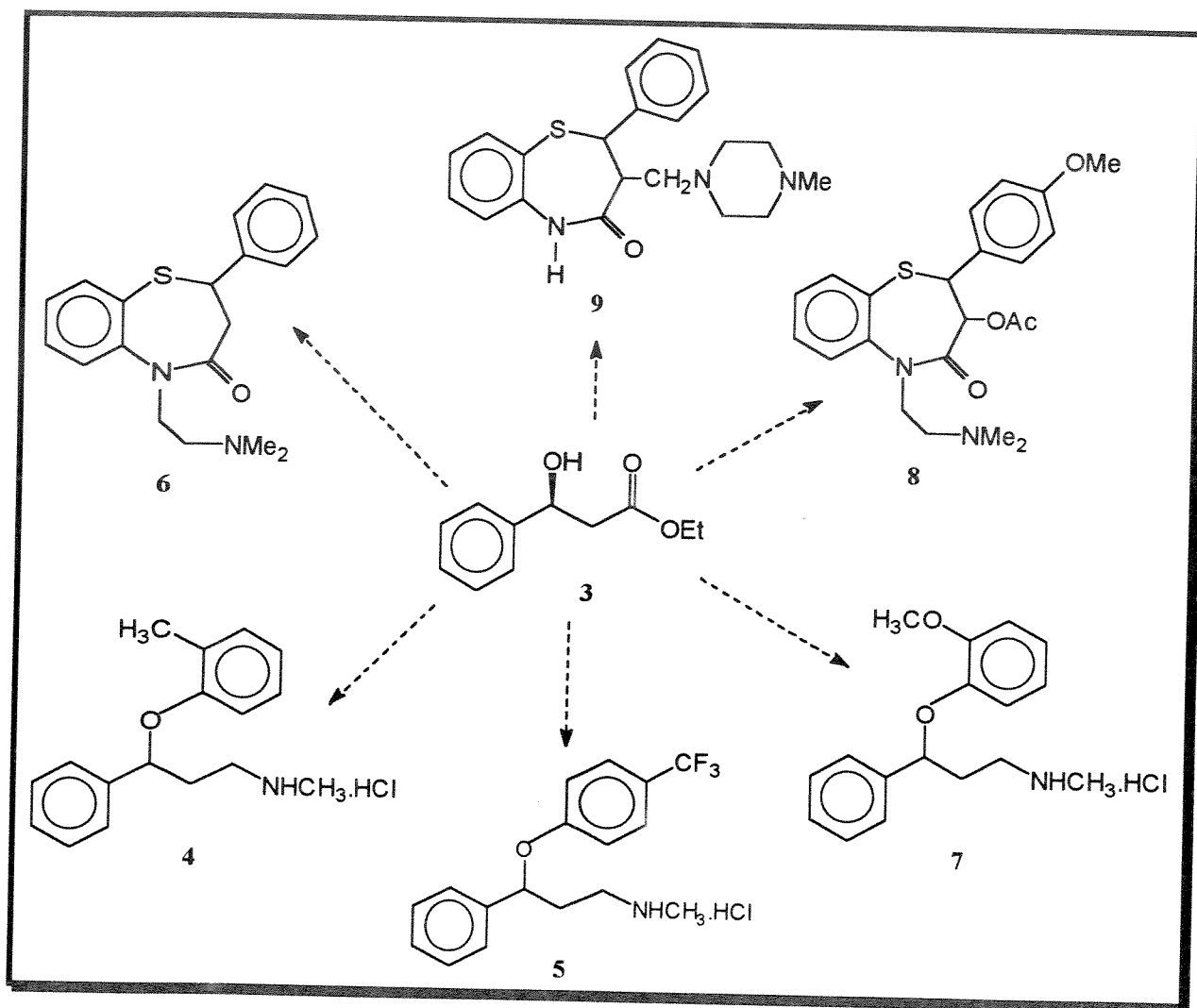
Kumar e col.^{7,9,10} utilizaram 3 proveniente da redução de 2 com fermento de pão como intermediário chave na síntese de (R)-Tomoxetina 4, (R) e (S)-Fluoxetina 5 e (R)-Tiazesim 6. Estas substâncias são utilizadas na sua forma racêmica como antidepressivos (Esquema II). O isômero 4 é nove vezes mais potente que o seu enantiômero. Ambos os enantiômeros da fluoxetina apresentam atividade. Contudo, estudos in vitro indicaram que o isômero (S) é 50% mais potente do que seu enantiômero^{11,12}. A fluoxetina é uma droga que se mostra promissora para o tratamento de ansiedade, pânico crônico, alcoolismo e distúrbios do apetite como bulimia e obesidade.

Chênevert e col.^{8,13} através de outra rota também sintetizaram os isômeros (R) e (S) da fluoxetina (5) através de 3 proveniente da redução de 2 por fermento de pão.

Como a fluoxetina parece ser uma droga bastante eficaz no tratamento da depressão e de outras doenças, isto despertou o interesse dos cientistas, cujo resultado é a publicação de várias sínteses enantiosseletivas desta substância em revistas bem conceituadas cientificamente. Os trabalhos publicados por Corey e col.¹⁴, Brown e col.¹⁵ e Sharpless e col.¹⁶ empregam diferentes metodologias na etapa chave do processo, para alcançar o mesmo objetivo que é a preparação do centro quiral do álcool benzílico (PhCHOH-).

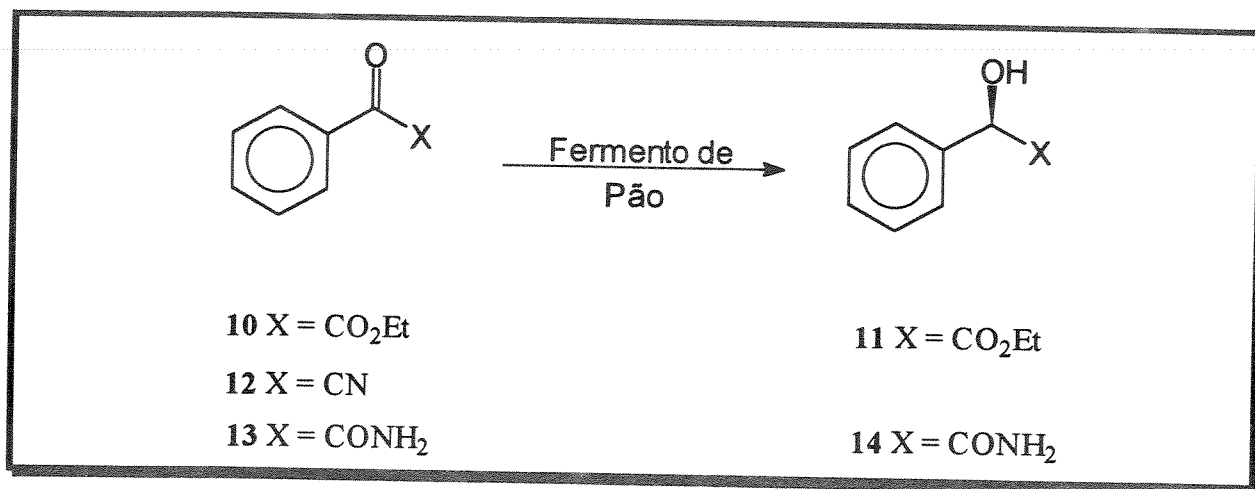
O intermediário 3 obtido a partir do método B por nós empregado, apresentou uma pureza óptica comparável e em alguns casos superior aos vários métodos citados, associado às condições experimentais simples, brandas e de baixo custo.

O (S)-(-)-3-hidróxi-3-fenilpropionato de etila (**3**) pode também ser empregado como um intermediário chave na síntese de Nisoxetina¹⁷ (**7**) (ativo como antidepressivo), Diltiazem¹⁸ (**8**) (ativo como vasodilatador coronário) e BTM-1086¹⁸ (**9**) (ativo contra úlcera e inibidor de secreção gástrica), conforme ilustra o Esquema II.



ESQUEMA II

III.2 - Redução de Derivados de α -cetoácidos:



ESQUEMA III

III.2.1 - Redução de Benzoilformiato de Etila (10) por Fermento de Pão:

Submetemos 10 à redução por fermento de pão empregando-se os métodos A e B, e observamos a formação do (R)-(-)-mandelato de etila (11).

Com a presença do centro quiral em 11, os prótons metilênicos deixaram de ser equivalentes e passaram a ser diastereotópicos, acoplando-se entre si e com o grupo metila. Assim, podemos observar no espectro de RMN-¹H desta substância um multiplete de 16 linhas correspondente aos duplos quartetos dos prótons pró-R e pró-S. Para determinarmos a posição do deslocamento químico destes prótons tomamos por base o modelo de correlação configuracional desenvolvido por Mosher e Dale¹⁹, o qual é bem aceito na literatura²⁰, e que procura racionalizar o sentido da não equivalência em RMN de grupos diastereotópicos em ésteres derivados do ácido mandélico, indicado na Figura 16.

De acordo com este modelo, o grupo hidroxila encontra-se ligado à carbonila do éster por ponte de hidrogênio, restringindo os conformeros da molécula a serem considerados. Observando-se a projeção de Newman da Figura 16, nota-se que o próton pró-R encontra-se eclipsado com o anel aromático, sofrendo uma blindagem deste grupo, resultando que o sinal referente a este próton esteja em campo mais alto que o próton pró-S.

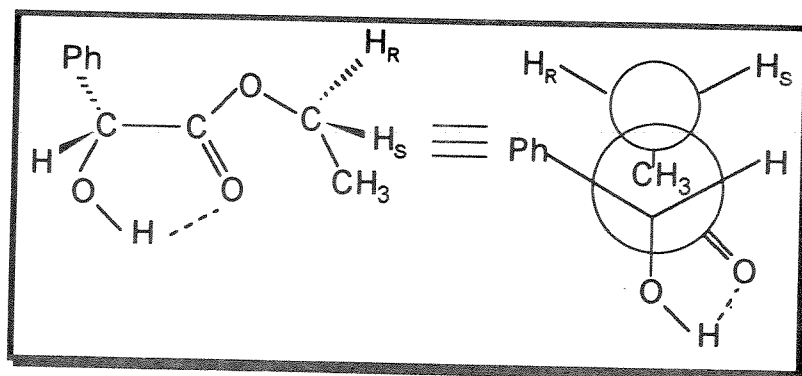


FIGURA 16 - Modelo correlacional de configuração para o (R)-(-)-mandelato de etila (**11**) e projeção de Newman correspondente.

Através desta análise podemos dizer que o sinal em 4,15 ppm se deve ao próton pró-R e o sinal em 4,25 ppm corresponde ao próton pró-S. A constante de acoplamento entre estes dois prótons é 10,6 Hz e encontra-se dentro da faixa observada para compostos estruturalmente similares²¹.

Os resultados obtidos na redução de **10** através dos métodos A e B encontram-se na Tabela IV. O (R)-(-)-mandelato de etila (**11**) obtido empregando-se o método A apresentou $[\alpha]^{23}_D -123^\circ$ (c 1,1 CHCl_3) e aquele obtido através do método B apresentou $[\alpha]^{23}_D -117^\circ$ (c 1,1 CHCl_3).

Tabela IV - Resultados da redução de **10** por Fermento de Pão

Método ^a	<i>R.Q</i> /%	<i>pol</i> /%
A	70	95
B	49	90

^aMétodo A (Redução na presença de açúcar e sulfato de zinco), Método B (Redução sem aditivos).

Ridley e Stralow²², reduziram **10** com fermento de pão na presença de açúcar e obtiveram (R)-(-)-**11** com um rendimento químico de 68% e valor de rotação óptica $[\alpha]^{25}_D -130^\circ$ (c 1 CHCl_3), o qual consideramos como valor de rotação óptica máximo para efeito de cálculo da pureza óptica.

Naoshima e col.²³ reduziram **10** com fermento de pão imobilizado em alginato de cálcio, utilizando hexano como solvente e empregando vários álcoois como fonte de energia

e obtiveram (R)-(-)-11. Os rendimentos químicos (42-66%) e ópticos (91-94%) obtidos foram comparáveis àqueles obtidos por sistemas análogos contendo glicose. Na presença de álcool alílico como fonte de energia não houve a redução.

Ward e Young²⁴ investigaram entre outros, a redução de 10 por células intactas e extratos de células de fermento de pão. De acordo com estes autores a redução de 10 forneceu predominantemente o enantiômero R do mandelato de etila, o qual apresentou a velocidade de formação mais alta entre todos os substratos estudados.

Os testes com extratos de células na redução de 10 indicaram alguma atividade de oxidoreductase na presença de NADH; porém NADPH mostrou ser a coenzima preferida nesta redução. Além disso a atividade de oxidoreductase predominou no extrato bruto do fermento, havendo pouca atividade enzimática associada com a fração sólida ressuspensa.

Resumindo-se as considerações feitas acima, os resultados fornecidos pelos métodos A e B na redução de 10 por fermento de pão são comparáveis aos relatados na literatura utilizando-se diferentes sistemas.

Uma possível aplicação para os ésteres mandelatos é a sua utilização como agentes de derivatização quiral para determinação de pureza enantiomérica através da técnica de RMN²⁵.

III.2.2 - Redução de Cianeto de Benzoila (12) por Fermento de Pão:

Submetemos 12 à redução com fermento de pão pelo método B. Entretanto a redução não ocorreu, recuperando-se quantitativamente o material de partida.

Procedemos então à hidrólise ácida de 12 a fim de obtermos a benzoilformamida (13).

Caso 12 tivesse sido reduzido pelo fermento de pão, obter-se-ia a cianoidrina correspondente (PhCHOHCN-mandelonitrila), a qual é um intermediário importante para a obtenção de β -aminoálcoois, efedrina, norefedrina e ácido mandélico.

Embora existam vários exemplos na literatura de cetonas funcionalizadas que foram reduzidas com sucesso pelo fermento de pão, os relatos sobre a redução de cetônitrilas não são muito comuns. Na verdade, o único relato sobre o qual temos conhecimento é o artigo publicado por Itoh e col.²⁶ sobre a redução de β -cetônitrilas α -alquilsubstituídas por fermento de pão. Estes autores obtiveram produtos após a incubação dos substratos por 8 dias na presença de glicose.

III.2.3 - Redução de Benzoilformamida (13) por Fermento de Pão:

Submetemos **13** à redução com fermento de pão pelo método A e obtivemos a (R)-(-)-mandelamida (**14**). Esta apresentou $[\alpha]^{20}_D - 73,8^\circ$ (c 1,5 acetona). Para o cálculo do rendimento óptico de **14** nos baseamos no valor calculado²⁷ de rotação óptica $[\alpha]^{24}_D - 76,4^\circ$ (c 1,7 acetona). Os resultados obtidos encontram-se na Tabela V.

Tabela V - Resultados da redução de **13** por Fermento de Pão

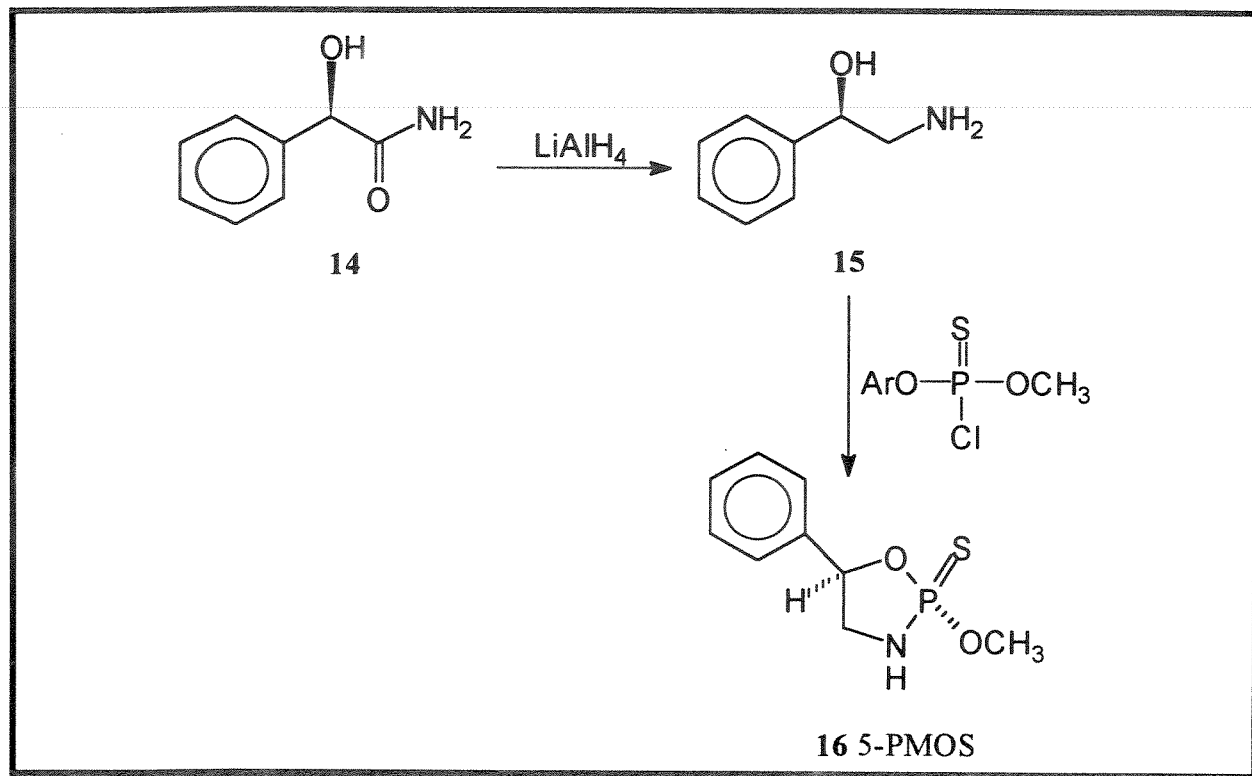
Método ^a	RQ/%	po/%
A	62	97

^aMétodo A (Redução na presença de açúcar e sulfato de zinco).

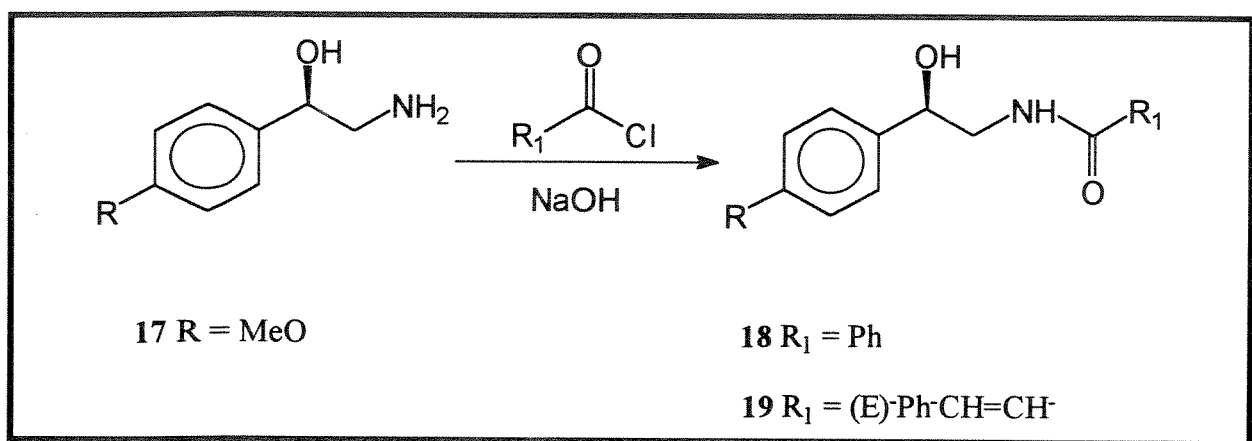
Ridley e col.² reduziram **13** com fermento de pão obtendo (R)-(-)-**14** com um rendimento químico de 70%. Entretanto cabe mencionar que estes autores tiveram que se utilizar de um procedimento mais elaborado para conseguir este resultado uma vez que o método mais simples (fermento/açúcar/água) mostrou ser insatisfatório para este substrato.

A (R)-(-)-mandelamida (**14**) pode ser reduzida com hidreto de lítio e alumínio e formar o (R)-(-)-2-amino-1-feniletanol (**15**), o qual por sua vez pode ser utilizado na preparação de compostos organofosforados quirais como o 5-PMOS (**16**) (2-sulfeto de 2-metoxi-5-fenil-1,3,2-oxazafosfolidina), o qual mostrou atividade inseticida contra a mosca doméstica²⁸ (Esquema IV).

Hidroxiamidas naturais como tembamida (**18**) e aegeline (**19**), isoladas de vários membros da família Rutaceae, podem ser preparadas através de **17**, o qual é estruturalmente similar a **15**. Estas hidroxiamidas **18** e **19** tem atividade parecida com a da adrenalina além de apresentarem atividade inseticida. Adicionalmente a estas propriedades, remédios indianos tradicionais (extratos de *Aegle marmelos* Corr.) que contém **18** apresentam atividade hipoglicêmica²⁹ (Esquema V).



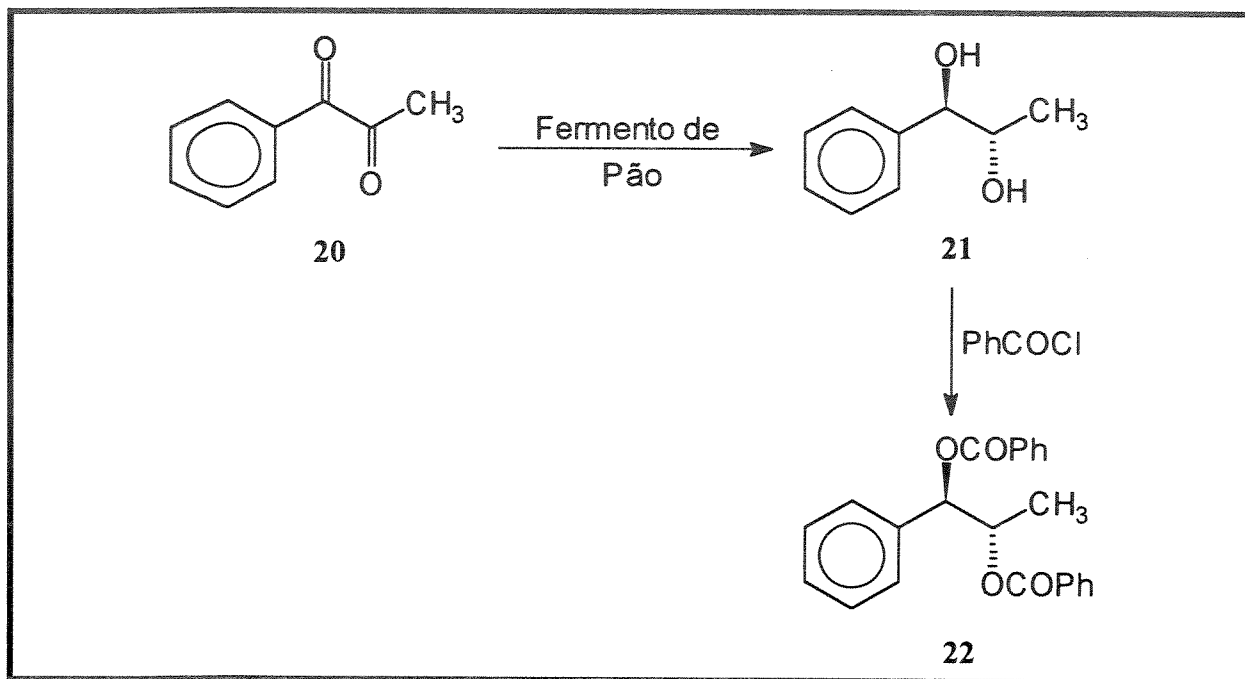
ESQUEMA IV



ESQUEMA V

III.3 - Redução de α -dicetonas:

III.3.1 - Redução de 1-fenil-1,2-propanodiona (**20**) por Fermento de Pão:



ESQUEMA VI

Submetemos **20** à redução por fermento de pão empregando-se os métodos A, B, C e obtivemos como único produto o 1-fenil-1,2-propanodiol (**21**)³⁰.

Comparando-se os dados espectrais de RMN-¹H de **21** com os dados fornecidos pela literatura³¹, podemos assinalar a configuração relativa **anti** para o diol **21**.

Os resultados da redução de **20** através dos três métodos encontram-se na Tabela VI. Neste caso, não calculamos a pureza óptica da maneira usual, pois o valor de rotação óptica para o diol **21** obtido através do método B é superior ao valor descrito na literatura³⁵.

Converteu-se o diol **21** obtido através do método A ao derivado dibenzoilado **22** reagindo-se com cloreto de benzoila (Esquema VI). O dibenzoato **22** apresentou $[\alpha]^{20}_D + 59,0^\circ$ (c 1,2 CHCl₃). Comparando-se este resultado com os dados da literatura^{32,33} ($[\alpha]^{20}_D + 62,2^\circ$ (c 2 CHCl₃)), podemos atribuir ao diol **21** a configuração absoluta (1R, 2S) e pureza óptica de 92%.

Em relação aos resultados da Tabela VI, comparando-se os rendimentos químicos obtidos para os métodos B e C podemos dizer que estes resultados são concordantes com os

resultados obtidos por Nakamura e col.³⁴ na redução de β -cetoésteres por fermento de pão, na ausência e presença de glicose. Conforme estes autores a presença de glicose estimula o sistema glicolítico do fermento para a produção de NAD(P)H, havendo também um ganho energético para o sistema. Eles também observaram que a glicose acelera a redução em comparação aos resultados sem qualquer aditivo.

Tabela VI - Resultados da Redução de 20 por Fermento de Pão:

Método ^b	RQ/%	$[\alpha]^{20}_D$
A	89	- 37,9° (c 1,2 CHCl ₃)
B	67	- 44,3° (c 1,3 CHCl ₃)
C	74	- 37,6° (c 1,1 CHCl ₃)

^aLit.³⁵ $[\alpha]^{25}_D$ - 40° (c 1,0 CHCl₃).

^bMétodo A (Redução na presença de açúcar e sulfato de zinco), Método B (Redução sem aditivos), Método C (Redução na presença de açúcar).

Em um outro artigo, Nakamura e col.³⁶ observaram também na redução de β -cetoésteres por fermento de pão, que na ausência de glicose a redução fornecia o produto com um alto *ee*, enquanto que variando-se a concentração de glicose havia um decréscimo no *ee*. Estes autores comentam que as enzimas que produzem os isômeros R e S devem atuar de maneira diferente em relação ao aumento na concentração de NAD(P)H induzido pela glicose.

Comparando-se os resultados obtidos para os métodos A e C, observa-se um aumento no rendimento químico para o método A em relação ao método C; sendo que a diferença básica entre eles é a presença e ausência de sulfato de zinco.

Em reações biomiméticas³⁷, íons metálicos são adicionados para imitar a ação dos íons metálicos contidos em enzimas NAD(P)H dependentes. Os íons metálicos catalisam as reações e ajudam a controlar a estereoquímica da redução pela formação de um complexo entre a cetona e o anel dihidropiridínico; conforme Ohno e col.³⁸ parece que o zinco tem um papel importante ao favorecer o encontro de um composto modelar e o substrato, coordenando ambos. Pode-se dizer que todas as seis maiores classes de enzimas, incluindo-se as oxidoredutases, apresentaram enzimas que contém zinco.

Entre as funções mais importantes do zinco está a estabilização das estruturas celulares. Estudos experimentais³⁹ indicaram que a limitação do crescimento por zinco afeta várias características das células microbiais, entre elas o metabolismo de carboidratos.

MacLeod e col.⁴⁰ comentam que a falta do íon zinco inibe fortemente o consumo do açúcar pelo fermento. Estes autores investigaram o efeito da adição de zinco ao meio fermentativo da redução assimétrica de cetonas por fermento de pão, para verificar se havia algum efeito sistemático. Contudo eles não observaram uma diferença significativa entre os procedimentos com zinco e sem zinco. O único resultado com algum significado, foi uma diferença de 5% na assimetria entre os dois tipos de experimentos.

Sabe-se que a concentração de elementos químicos essenciais no meio fermentativo influencia a velocidade de crescimento específica máxima de microorganismos. No caso do microorganismo *T. Pullulans*, observou-se um aumento de três vezes na velocidade de crescimento específica máxima quando a concentração de sulfato de zinco hexahidratado no meio aumentou de 0,1 a 1,2 mg/l³⁹.

Os resultados da Tabela VI são concordantes com as considerações feitas acima, ou seja, obtivemos um maior rendimento químico e pureza óptica semelhante para os métodos A e C, enquanto que para o método B obtivemos um menor rendimento químico porém com uma pureza óptica superior aos outros métodos.

Sorrilha e col.^{41,42} reduziram **20** ao diol **21**, utilizando fermento de pão imobilizado em crisotila e montmorilonita K10. Contudo, os resultados obtidos foram inferiores aos resultados obtidos com fermento de pão livre.

Takeshita e Sato⁴³ publicaram resultados que são concordantes com os que obtivemos. Eles reduziram **20** com fermento de pão e obtiveram **21** com um rendimento químico de 89% e 94% de excesso enantiomérico ($[\alpha]^{21}_D - 38,6^\circ$ (c 3,2 CHCl₃) sendo que o dibenzoato **22** apresentou $[\alpha]^{22}_D + 59,4^\circ$ (c 2,3 CHCl₃).

Estes autores monitoraram a reação de redução por RMN-¹H e observaram que a formação do diol **21** ocorre via os cetoálcoois **23** e **24** (Figura 17). Trabalhando à baixa temperatura (5 °C), eles isolaram **23** e **24** com rendimentos químicos moderados.

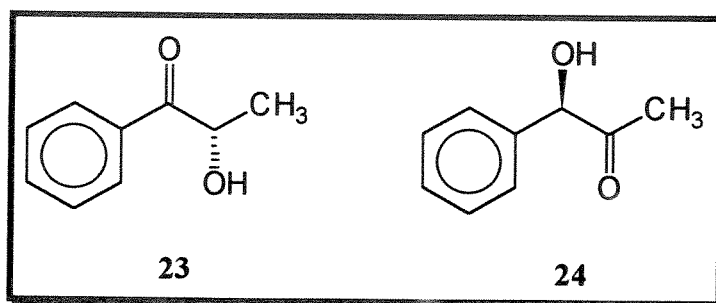


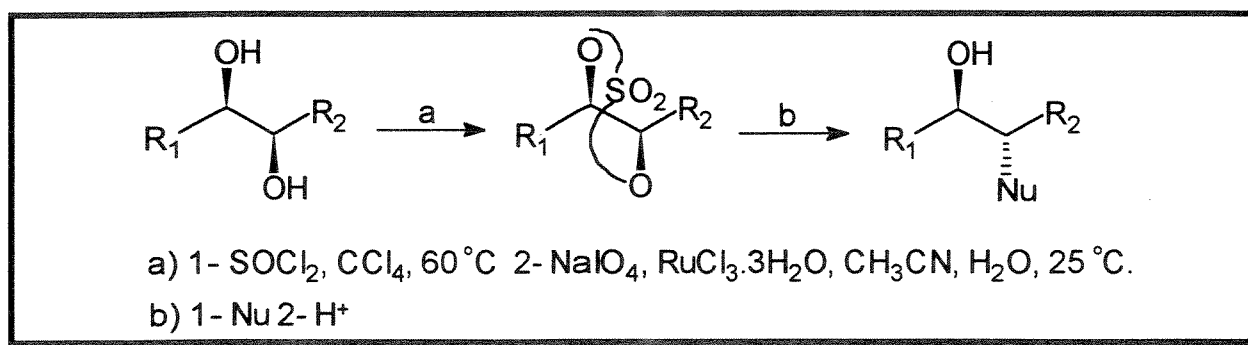
FIGURA 17 - Possíveis intermediários de reação na formação do (1R,2S)-1-fenil-1,2-propanodiol (**21**).

Entretanto, Chênevert e Thiboutot⁴⁴ relataram que a redução de **20** por fermento de pão na presença de açúcar e em tampão fosfato a pH 5 conduziu exclusivamente a (S)-(-)-2-hidróxi-1-fenil-1-propanona (**23**), com um rendimento químico de 80% e pureza óptica maior que 95%. De acordo com estes autores, a biorredução a pHs mais altos fornece uma mistura do diol **21** e **23**.

Outros autores⁴⁵ reduziram **20** com fermento de pão na presença de etanol como fonte de energia e obtiveram **23** com rendimento químico semelhante (72%) ao obtido por Chênevert e Thiboutot, porém com pureza óptica bastante inferior (45%).

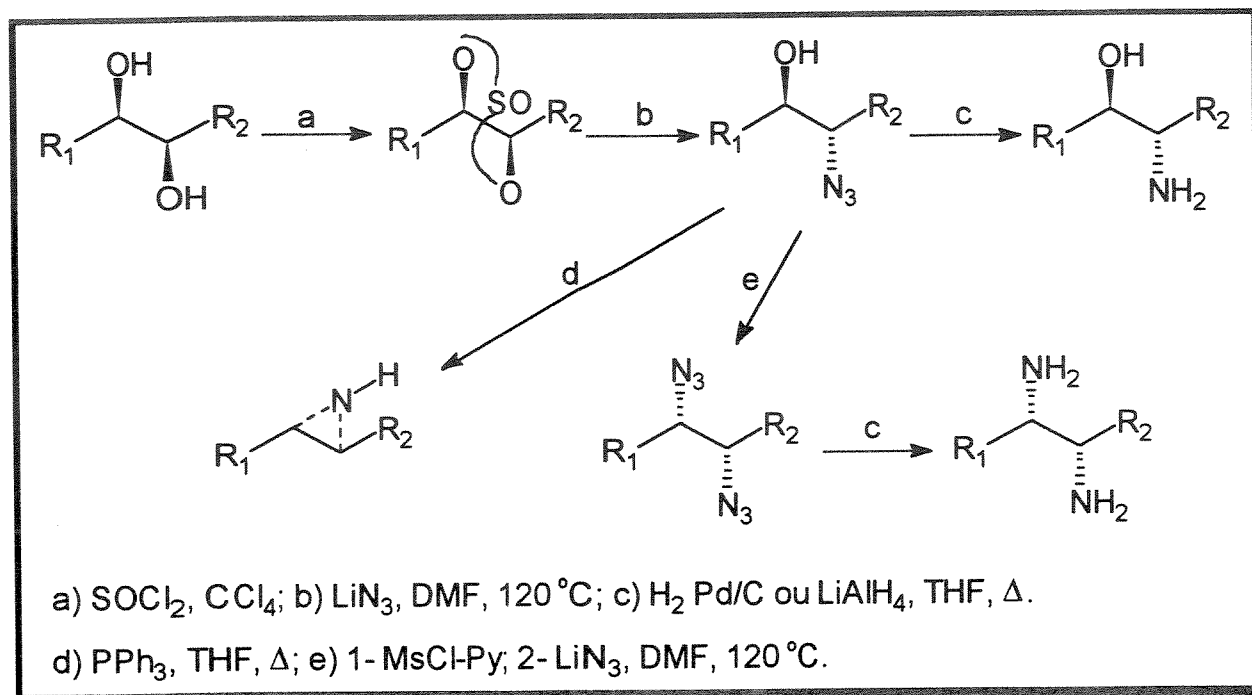
Em resumo, o diol **21** foi isolado a partir do metabolismo in vitro e in vivo de ratos e coelhos⁴⁶ da α -dicetona (**20**), e também pode ser preparado através de síntese assimétrica utilizando-se diferentes reagentes^{47,48,49,50}. Além disso ele também foi isolado da redução de benzaldeído por fermento de pão^{51,52}. Assim, a metodologia utilizada neste trabalho para a preparação de **21** pode ser comparada favoravelmente a outras rotas sintéticas, pelas vantagens que oferece, como baixo custo, praticidade, eficiência, etc..

Sharpless e col.^{53,54} desenvolveram um método para transformar diois vicinais em sulfatos cíclicos de diois vicinais conferindo a este grupo funcional um comportamento eletrofílico bastante versátil para utilização como intermediários em síntese orgânica (Esquema VII). Desta forma este tipo de intermediários teriam importância sintética similar à demonstrada pelos epóxidos porém sendo mais reativos.



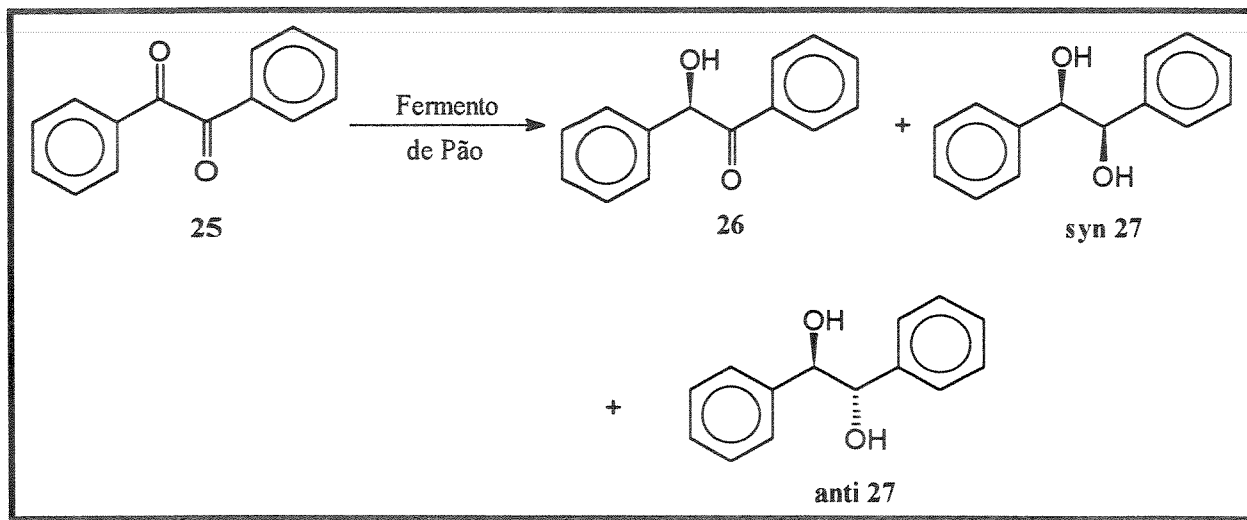
ESQUEMA VII

Uma alternativa similar foi proposta por Lohray e Ahuja⁵⁵ mas utilizando-se sulfitos cíclicos a partir de diois vicinais (Esquema VIII). De acordo com a proposta destes autores é possível a síntese de vários aminoálcoois, aziridinas e diaminas.



ESQUEMA VIII

III.3.2 - Redução de Benzila (25) por Fermento de Pão:



ESQUEMA IX

Submetemos benzila (25) à redução por fermento de pão empregando-se os métodos A e B e obtivemos benzoína (26) em maior proporção e uma mistura dos isômeros **syn** e **anti** do 1,2-difenil-1,2-etanodiol (27) em menor proporção. Os resultados obtidos encontram-se indicados na Tabela VII.

Tabela VII - Resultados da Redução de 25 por Fermento de Pão:

Método ^a	Benzoína (26)		Mistura de Isômeros syn e anti do 1,2- difenil-1,2-etanodiol (27)
	<i>RQ</i> /%	<i>po</i> /%	<i>RQ</i> /%
A	60	23	19
B	41	42	22

^aMétodo A (Redução na presença de açúcar e sulfato de zinco), Método B (Redução sem aditivos).

A benzoína (26) obtida através do método A apresentou $[\alpha]^{25}_D$ - 25,8° (c 1,2 acetona) e a benzoína obtida através do método B apresentou $[\alpha]^{25}_D$ - 47,8° (c 1,6 acetona).

Podemos assinalar a configuração absoluta (R) para a benzoína obtida através dos dois métodos, por comparação com os dados da literatura⁵⁶, de acordo com a qual a (R)-**26** ópticamente pura apresentou $[\alpha]^{25}_D - 114^\circ$ (c 1,5 acetona) cujo valor foi utilizado para calcular os valores de pureza óptica indicados na Tabela VII.

No método A recuperou-se 9% de **25** que não reagiu.

Para a benzoína obtida através do método B foi determinado um excesso enantiomérico de 29% utilizando-se a técnica de RMN-¹H (80 MHz), com adição de reagente de deslocamento quiral (+)-Eu(hfc)₃ (**1**). Após o desdobramento dos sinais do próton benzílico de **26**, calculamos a área dos respectivos picos conforme descrito⁵⁷ e através destas determinamos o excesso enantiomérico.

Observamos nos espectros de RMN-¹H dos extratos brutos das reduções de **25** pelos métodos A e B a formação de uma mistura de isômeros *syn* e *anti* do 1,2-difenil-1,2-etanodiol (**27**), havendo predominância do isômero *anti*. Os prótons benzílicos para os dois diastereoisômeros são facilmente distintos, pois o próton benzílico para o isômero *anti* absorve em campo mais baixo (4,82 ppm), que o isômero *syn* (4,60 ppm) correspondente⁵⁸.

Chênevert e Thiboutot⁴⁴ reduziram **25** com fermento de pão na presença de açúcar e mantendo o pH da redução em 5 e obtiveram benzoína racêmica com um rendimento químico de 40%.

A redução de **25** por *Cryptococcus macerans*⁵⁹ forneceu **26** com um rendimento químico de 18% e configuração absoluta (S), adicionalmente houve formação de 27% do diol *syn* (R,R) e traços do diol *anti* (R,S). Estes autores comentam que Prelog reduziu **25** utilizando *Curvularia falcata* obtendo (R)-**26** e quantidades apreciáveis do diol *anti*. Estes autores também examinaram a redução de benzoína racêmica por *Cryptococcus macerans*, e observaram que esta foi eficientemente convertida ao diol *syn* (R,R), e ao isolar a benzoína que não reagiu esta mostrou ser levorotatória, ou seja, conter um excesso do enantiômero (S). Segundo os autores estes resultados sugerem que a R-**26** seja mais facilmente reduzida que o enantiômero (S), e como o diol *syn* (R,R) foi obtido com um rendimento maior que 50%, deva existir um mecanismo para equilibrar os enantiômeros (R) e (S). Assim, a velocidade de racemização mostra ser mais lenta que a velocidade da redução. De acordo com estes autores a capacidade da enzima reduzir R-**26** ao diol *syn* (R,R), enquanto realiza uma pequena redução de S-**26** é admirável, e eles racionalizam os resultados obtidos assumindo que a enzima considera o grupo fenila como o substituinte mais volumoso e o grupo α -hidróxibenzila como o menos volumoso.

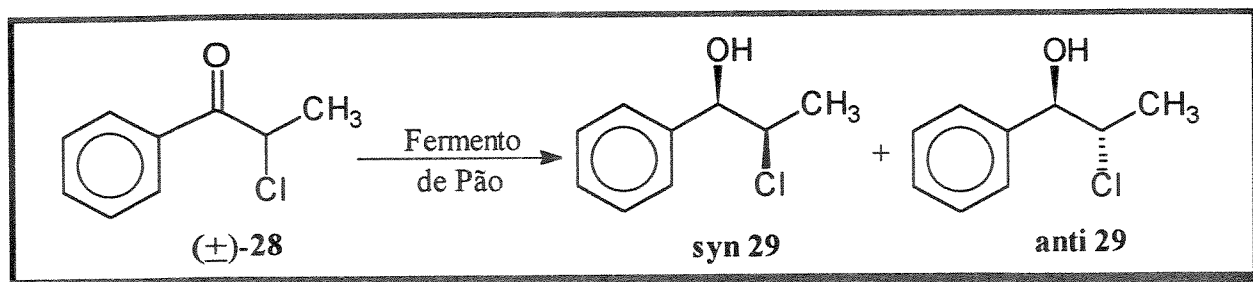
Ohta e col.⁵⁶ empregaram a bactéria *Xanthomonas oryzae* IAM 1657 para reduzir benzila e obtiveram (R)-**26** ópticamente pura com um rendimento químico de 86%. Outros

autores^{60,61} empregando outros microorganismos também reduziram benzila e os resultados obtidos variaram conforme o microorganismo utilizado.

III.4 - Redução de Fenilcetonas α -substituídas:

III.4.1 - Redução de $(\pm)$ 2-cloropropiofenona **28** por Fermento de Pão:

Preparou-se a $(\pm)$ -2-cloropropiofenona (**28**) conforme descrito⁶², purificando-se o material através do sistema de destilação adiabático "Spinning Band", obtendo-se a fração mais pura a 126 °C/15 mmHg. Os dados espectroscópicos obtidos para $(\pm)$ -**28** foram concordantes com aqueles descritos na literatura^{63,64}.



ESQUEMA X

Submetemos $(\pm)$ -**28** à redução por fermento de pão empregando-se os métodos A e B. Os resultados obtidos encontram-se indicados na Tabela VIII.

Na redução efetuada através do método A, recuperamos 8% da clorocetona de partida e obtivemos 19% de uma mistura 1:1 dos isômeros **syn** e **anti** do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (**29**).

Na redução através do método B, também recuperamos 8% de **28** e obtivemos uma mistura 1,2:1 dos isômeros **syn** e **anti** de (**29**) com um rendimento químico de 16%. Utilizando-se o mesmo método, porém aumentando o tempo de reação para 48 horas, obtivemos 40% de uma mistura 1:1 dos isômeros **syn** e **anti** do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (**29**). Com o aumento no tempo de reação, a clorocetona **28** foi totalmente consumida.

Através da técnica de cromatografia de coluna nas condições especificadas na parte experimental, não foi possível separar quantitativamente os diastereoisômeros **syn** e **anti**. Entretanto nas frações que se mostraram mais puras através da análise de seu espectro de RMN-¹H medimos a sua rotação óptica. O isômero **syn** apresentou $[\alpha]^{23}_{\text{D}} - 26,4^\circ$ (c 0,5 CHCl_3) e o isômero **anti** apresentou $[\alpha]^{25}_{\text{D}} - 18,3^\circ$ (c 0,5 CHCl_3). O excesso enantiomérico dos isômeros **syn** e **anti** foi determinado utilizando-se a técnica de RMN-¹H na presença do reagente de deslocamento quiral (+)-Eu(hfc)₃ (**1**).

Tabela VIII - Resultados da redução de ($\pm$)-2-cloropropiofenona (**28**) por Fermento de Pão:

Método ^a	RQ/%	ee/%	
		syn 29	anti 29
A	19	-	-
B	40	63	40

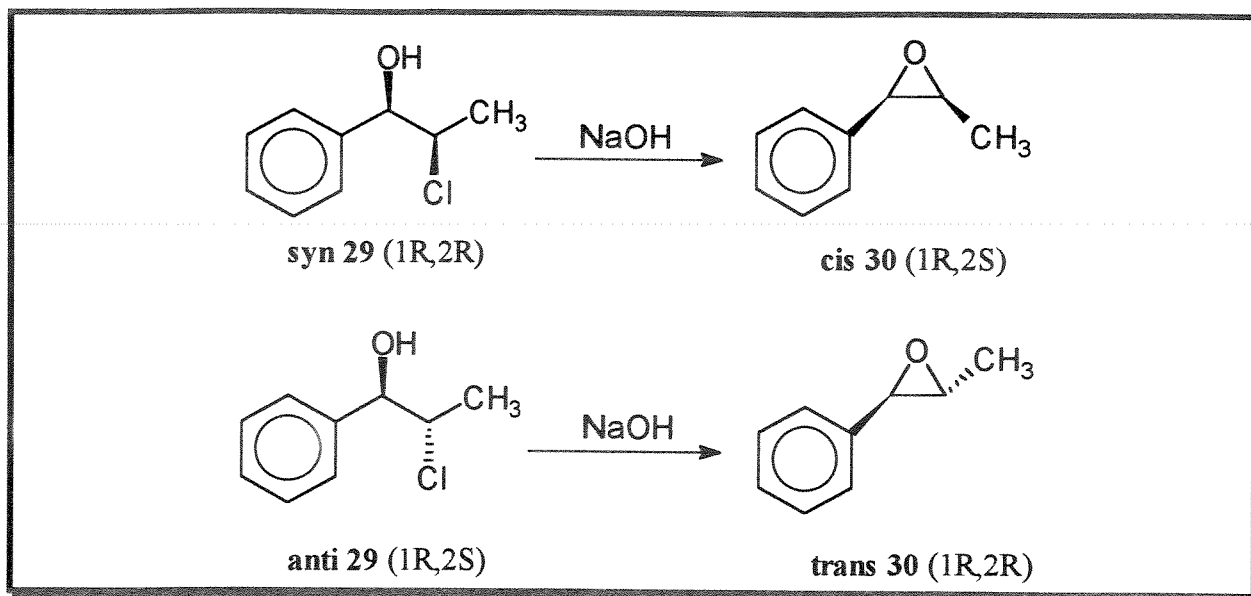
^aMétodo A (Redução na presença de açúcar e sulfato de zinco), Método B (Redução sem aditivos).

Determinou-se a configuração relativa das cloroidrinas **syn** e **anti** de **29**, convertendo-se as mesmas nos respectivos epóxidos⁶⁵, cujos dados espectroscópicos são conhecidos na literatura. Assim o isômero **syn** do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (**29**) foi convertido ao **cis**-1-fenil-1,2-epóxiopropano (**30**) (δ PhCH = 4,05 ppm e J_{vic} = 4,3 e lit.⁶⁶ δ PhCH = 4,02 ppm e J_{vic} = 4,8), e o isômero **anti** foi convertido ao **trans**-1-fenil-1,2-epóxiopropano (**30**) (δ PhCH = 3,05 ppm e J_{vic} = 2,0 e lit.⁶⁶ δ PhCH = 3,55 ppm e J_{vic} = 1,8), conforme ilustra o Esquema XI.

Determinamos a configuração absoluta dos centros assimétricos dos isômeros **syn** e **anti** de **29** também através dos epóxidos **cis** e **trans** de **30**.

Através de cromatografia de coluna, separou-se várias frações da mistura de isômeros **syn** e **anti**. Estas frações foram analisadas por cromatografia gasosa. Através desta técnica foi possível juntar as frações enriquecidas com cada isômero. Estas frações enriquecidas, posteriormente foram transformadas nos respectivos epóxidos e foram medidas as suas rotações ópticas e os sentidos de rotação obtidos para cada isômero foram comparados com os dados descritos na literatura.

Podemos então assinalar a configuração absoluta (1R,2S) para o **cis**-1-fenil-1,2-epóxiopropano (**30**), o qual apresentou $[\alpha]^{23}_D$ - 17,4° (c 0,5 CHCl₃) por comparação ao resultado fornecido pela literatura para o (1S,2R)-**cis**-1-fenil-1,2-epóxiopropano: $[\alpha]^{20}_D$ + 47,3° (c 1,43 CHCl₃)^{67,68}. O **trans**-1-fenil-1,2-epóxiopropano (**30**) apresentou $[\alpha]^{25}_D$ + 8,6° (c 1,2 CHCl₃) podendo-se assinalar a configuração absoluta (1R,2R) por comparação com a rotação óptica publicada na literatura para este isômero: $[\alpha]^{20}_D$ + 48,5° (c 0,9 CHCl₃)⁶⁷.



ESQUEMA XI

Através dos dados acima e uma vez que a formação de epóxido acontece com inversão de configuração na posição 2 da molécula, podemos inferir a configuração absoluta (1R,2R) para o isômero *syn* do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (29), e para o isômero *anti* a configuração absoluta (1R,2S).

Embora a redução microbial α -haloarilcetonas geralmente forneça haloidrinas com bons rendimentos ópticos e químicos, os relatos sobre a redução destes substratos por fermento de pão na literatura, são poucos. Não temos conhecimento que a redução de 28 por fermento de pão já tenha sido relatada na literatura até o presente momento.

De fato, as haloidrinas são intermediários úteis para a preparação de epóxidos quirais; os quais por sua vez tem um papel único em síntese orgânica, ou seja, eles ativam e protegem simultaneamente os átomos de carbono funcionalizados adjacentes e frequentemente são superiores a síntons acíclicos equivalentes pois a sua natureza cíclica torna desfavoráveis os processos de eliminação competitivos.

Ziffer e col.⁶⁹, submeteram vários tipos de α -halocetonas à redução por *Cryptococcus macerans*. Entre os substratos reduzidos, a 2-clorobutiروفenona é o substrato que mais se assemelha estruturalmente à 28. A análise do produto bruto da redução da 2-clorobutiروفenona por RMN-¹H indicou a presença da clorocetona de partida, butiروفenona e uma mistura de isômeros *syn* e *anti* das cloroidrinas correspondentes na seguinte proporção: 15:35:50. Após a purificação das cloroidrinas *syn* e *anti*, estas foram submetidas à condições de epoxidação e observou-se a uma razão 90:10 em relação aos epóxidos *cis* e

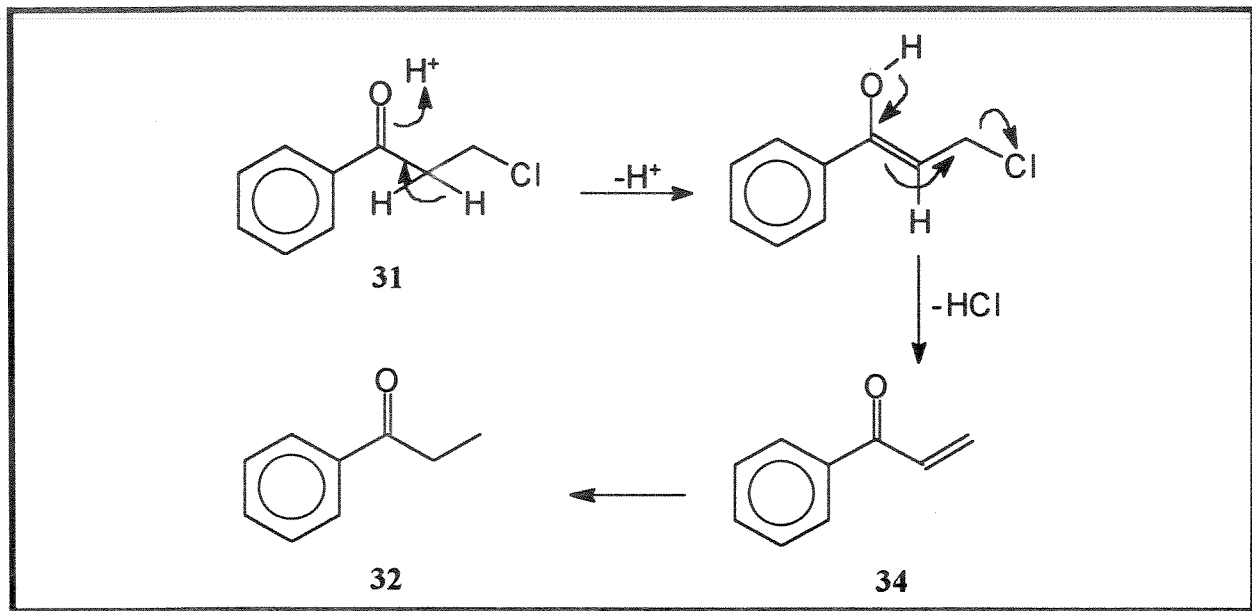
trans respectivamente. Estimou-se uma pureza óptica de 79% em relação ao centro assimétrico formado.

Ziffer e col.⁶⁹ mencionam que quando um carbono α é potencialmente assimétrico, os dois enantiômeros são reduzidos com diferentes velocidades. Através da racionalização sobre os álcoois formados nestas reduções e com a ajuda da regra de Prelog, eles fazem algumas considerações a respeito do tamanho e volume de grupos alquila e alquilsubstituídos e sua influência na estereoquímica da redução. Segundo eles, um grupo α -halometino em uma cetona cíclica é efetivamente maior do que a função aromática fundida. Comparando-se acetofenonas α -halosubstituídas, parece que grupos metila mono ou dissustituídos são efetivamente menores do que um anel aromático. Usando a redução de um substrato análogo ao benzila, porém com um grupo α -halometino no lugar de uma das carbonilas os autores concluem que nestas reduções há pouca diferença no tamanho efetivo de um grupo hidroxila e um átomo de cloro.

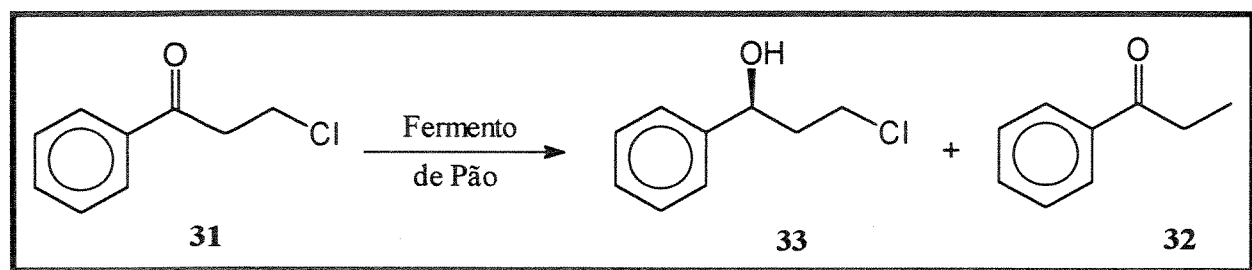
Fuganti e col.⁷⁰ reduziram 3-cloropropiofenona (**31**) utilizando fermento de pão e observaram a formação de 30% de propiofenona (**32**) e 58% (1S)-3-cloro-1-fenil-1-propanol (**33**). Utilizando o caminho sintético desenvolvido por Brown e col.¹⁵, eles empregaram o (1S)-3-cloro-1-fenil-1-propanol na preparação de (R)-fluoxetina (**5**).

Estes autores sugerem que a formação de propiofenona acontece através da eliminação de HCl (catalisada por ácido) da 3-cloropropiofenona, seguida de uma adição de hidrogênio na dupla ligação da fenil vinil cetona (**34**) intermediária, com o auxílio de uma enzima (Esquema XII).

Por analogia às considerações feitas por Ziffer e col.⁶⁹ e de acordo com os resultados obtidos para a redução de ($\pm$)-**28** podemos dizer que a redução ocorreu de acordo com a regra de Prelog, ou seja, o ataque de hidreto se deu preferencialmente na face Re de **28** considerando-se o grupo fenila como o grupo mais volumoso e o grupo CHClCH_3 como o grupo menos volumoso, conduzindo à formação dos álcoois de configuração (R). A diastereosseletividade da redução da cloro cetona **28** foi pequena e abordaremos este assunto mais adiante, englobando as demais fenil cetonas α -substituídas que foram utilizadas neste trabalho.

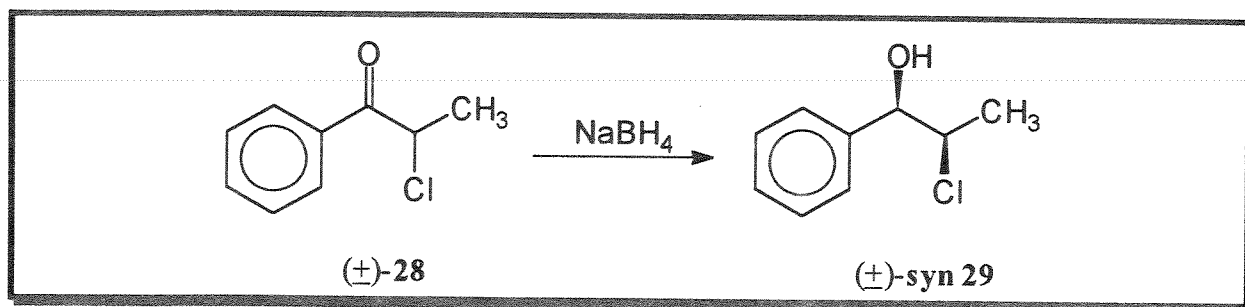


ESQUEMA XII A



ESQUEMA XII B

III.4.1.1 - Redução de ($\pm$)-2-cloropropiofenona **28** por NaBH_4 :



ESQUEMA XIII

Reduziu-se a ($\pm$)-2-cloropropiofenona (**28**) com NaBH_4 obtendo-se preferencialmente o isômero ($\pm$)-**syn** do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (**29**) (90:10) com um rendimento químico de 91%. Converteu-se o isômero ($\pm$)-**syn 29** ao epóxido ($\pm$)-**cis**-1-fenil-1,2-epóxiopropano (**30**) correspondente e os seus dados espectroscópicos foram concordantes com aqueles descritos na literatura.

Bodot e col.⁷¹ reduziram **28** com outros agentes redutores e obtiveram preferencialmente o isômero **syn**. Os resultados obtidos por estes autores, juntamente com aquele obtidos por nós encontram-se na Tabela IX.

Tabela IX - Redução diastereosseletiva de ($\pm$)-2-cloropropiofenona (**28**)⁷¹.

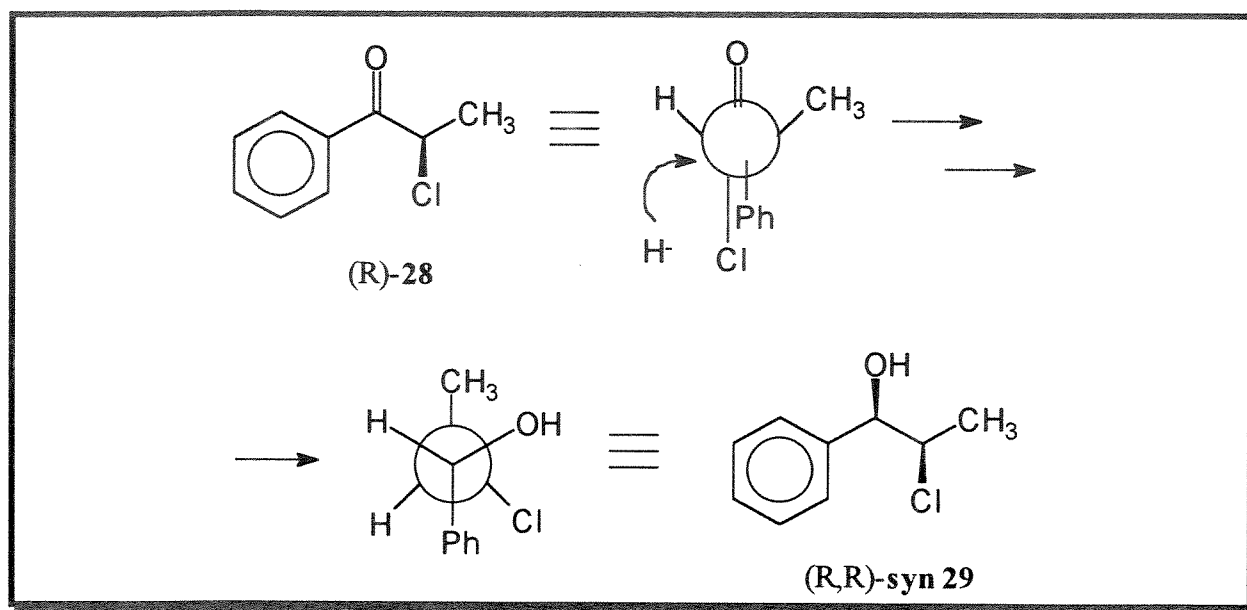
Agente Redutor	syn ^c /%	anti ^c /%	<i>RQ</i> ^c /%
LiBH_4	75	25	40
$\text{Al}(\text{OiPr})_3$	70	30	56
LiAlH_4^a	56	29	-
NaBH_4^b	90	10	91

^aFoi recuperado 15% da clorocetona de partida, ^bResultados obtidos neste trabalho, ^cIsômeros **syn** e **anti** do ($\pm$)-2-cloro-1-fenil-1-propanol (**29**).

O curso stereoquímico destas reduções em favor do isômero **syn** pode ser entendido através do "modelo dipolar" para indução assimétrica desenvolvido por Cornforth e col.⁷². Segundo este modelo, compostos carbonílicos acíclicos que apresentam grupos dipolares, como halogênio por exemplo, no carbono assimétrico vizinho à carbonila, tendem

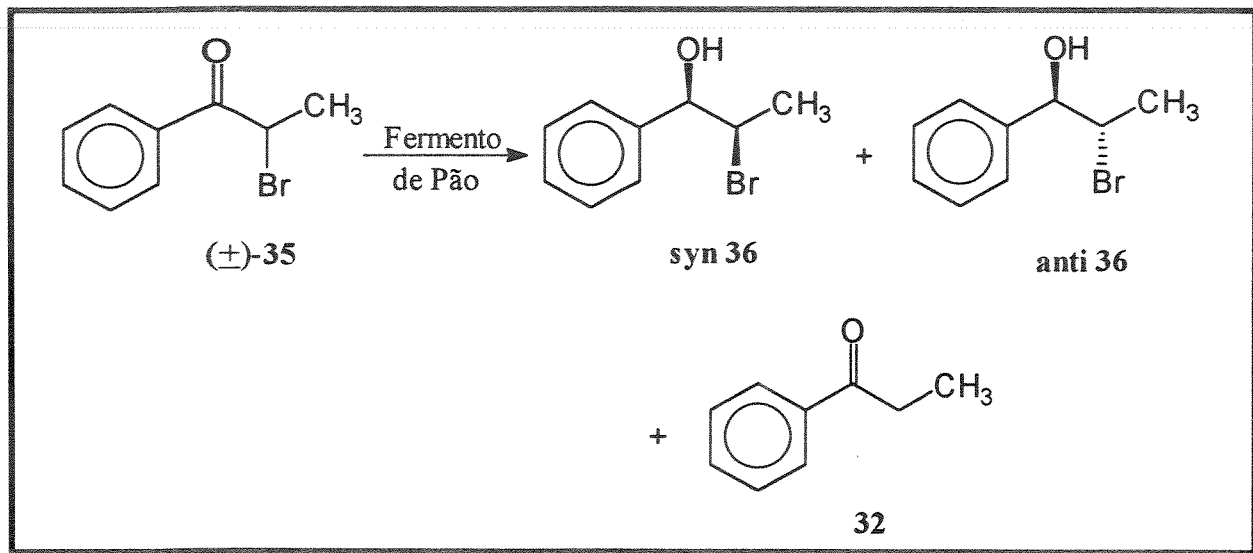
a assumir uma conformação onde o halogênio se posiciona trans em relação à carbonila, para minimizar a repulsão dipolo-dipolo. Assim o ataque do hidreto acontece pelo lado da molécula menos impedido estericamente.

O Esquema XIV mostra a aplicação deste modelo para o isômero (R) da 2-cloropropiofenona. Uma vez que utilizamos a 2-cloropropiofenona racêmica, assume-se que os passos indicados para a redução com o hidreto do isômero (R) também acontecem com o isômero (S), conduzindo preferencialmente a um dos diastereoisômeros, porém racêmico.



ESQUEMA XIV

III.4.2 - Redução de $(\pm)$ -2-bromo e $(\pm)$ -2-iodopropiofenona (**35** e **37**) por Fermento de Pão:



ESQUEMA XV

Submetemos a $(\pm)$ -2-bromo e a $(\pm)$ -2-iodopropiofenona à redução por fermento de pão empregando-se os métodos B e D, ou seja, na ausência de aditivos e na presença de m-dinitrobenzeno (m-DNB), que atua como um capturador de radicais. Os resultados obtidos estão indicados na Tabela X.

Em relação à redução de $(\pm)$ -2-bromopropiofenona (**35**) através do método B, observamos a formação de propiofenona (**32**) e dos isômeros **syn** e **anti** 2-bromo-1-fenil-1-propanol (**36**). Através do espectro de RMN- ^1H constatou-se a formação preferencial do isômero **syn** numa proporção 2:1 em relação ao isômero **anti**. A redução de **35** através do método D, na presença de m-DNB, também forneceu propiofenona (**32**), porém em menor proporção que no método B e uma mistura dos isômeros **syn** e **anti** do 2-bromo-1-fenil-1-propanol (**36**) numa proporção 1,7:1 em favor do isômero **syn**. Não houve, para o método D um aumento no rendimento químico das bromoidrinas concomitante com a queda na formação de propiofenona.

Assinalamos a configuração relativa das bromoidrinas obtidas através de RMN- ^1H , comparando-se seus dados espectrais com os dados descritos na literatura, ou seja, o isômero **syn** apresentou um δ CHOH em 4,61 ppm e $J_{\text{vic}} = 7,7$ Hz, lit.⁷³ 4,58 ppm e lit.⁷⁴

$J_{vic} = 7,5$ Hz e o isômero **anti** apresentou δ CHOH 5,00 ppm e $J_{vic} = 3,5$ Hz, lit.⁷³ 4,95 ppm e lit.⁷⁴ $J_{vic} = 3,0$ Hz.

Tabela X - Resultados da Redução de ($\pm$)-2-bromo e ($\pm$)-2-iodopropiofenona (**35** e **37**) por Fermento de Pão.

		PhCHOHCHXCH ₃			Propiofenona (32)
Halocetona	Método ^a	RQ/%	ee/%		RQ/%
			syn	anti	
35 X = Br	B	4	66	6	7
	D	4	69	8	4
37 X = I	B	-	-	-	27 ^b
	D	-	-	-	35

^aMétodo B (Redução sem aditivos Método D (Redução na presença de m-DNB).

^bDetectou-se a presença de 1-fenil-1-propanol (**38**).

Os excessos enantioméricos das bromoidrinas **syn** e **anti**, obtidas através dos métodos B e D, foram determinados através da técnica de RMN-¹H na presença do reagente de deslocamento quiral (+)-Eu(hfc)₃ (**1**). Na Tabela X podemos observar uma grande diferença no excesso enantiomérico dos isômeros **syn** e **anti**. Enquanto o isômero **syn** apresenta um excesso enantiomérico razoável pode-se dizer que o isômero **anti** foi obtido quase que na sua forma racêmica. Estes resultados são contrastantes com aqueles obtidos para a 2-cloropropiofenona (Tabela VIII), onde embora tenha sido obtido um excesso enantiomérico menor para o isômero **anti**, a diferença para o isômero **syn** não foi tão grande como no caso das bromoidrinas. Entretanto, pretendemos abordar este assunto mais detalhadamente após descrevermos os resultados obtidos para a 2-azidopropiofenona.

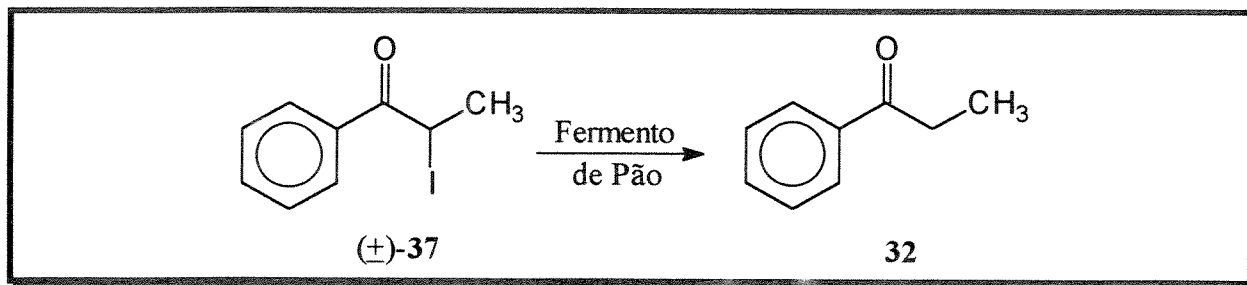
Gostaríamos de lembrar porém que, em um sistema microbial de redução, existem duas possibilidades que podem explicar uma estereosseletividade insatisfatória. Em uma delas, temos apenas uma desidrogenase que é responsável pela redução de um substrato e a estrutura do substrato não é adequada para exercer uma diferença enantio ou diastereofacial na cavidade da enzima. Na outra possibilidade, podem estar operando simultaneamente duas ou mais desidrogenases, mas algumas enzimas produzem o álcool de configuração (R)

enquanto outras contribuem para produzir o álcool de configuração (S). Embora cada redução aconteça com uma estereosseletividade alta, há uma boa chance de se obter uma mistura racêmica.

O rendimento químico das reduções de **35** com fermento de pão através dos métodos já mencionados foi muito baixo, é possível que a bromocetona tenha sido consumida por reações laterais. Este comportamento também foi observado na redução da bromoacetofenona por fermento de pão⁷⁵.

A redução da ($\pm$)-2-iodopropiofenona (**37**) através dos métodos B e D forneceu exclusivamente a propiofenona (**32**) (Esquema XVI), com o método D (redução na presença de m-DNB) apresentando um rendimento químico maior que o método B. Na redução através do método B detectou-se a presença de 1-fenil-1-propanol (**38**), provavelmente como um resultado da redução de propiofenona (**32**) pelo fermento de pão.

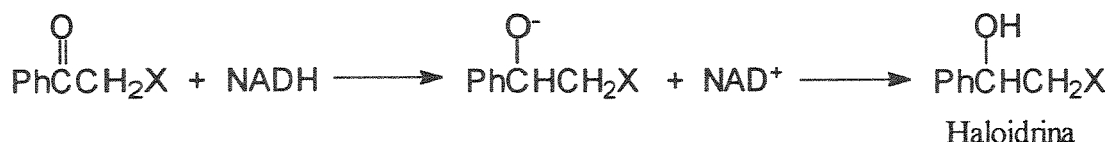
Tanner e col.⁷⁶ utilizaram α -halocetonas como provas mecanísticas, para o estudo das reduções por NADH, controladas pela enzima HLADH (desidrogenase de fígado de cavalo). Este estudo foi realizado com o intuito de diferenciar o mecanismo através do qual a redução acontece; em um processo heterolítico a redução ocorre via transferência direta de hidreto, por outro lado em um processo homolítico a redução ocorre via transferência de elétrons (Esquemas XVII e XVIII respectivamente).



ESQUEMA XVI

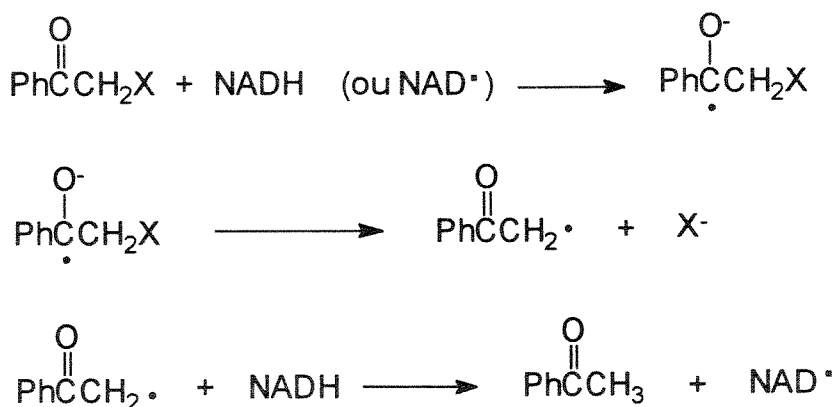
Segundo Tanner e col.⁷⁶, cetonas menos reativas como a α -fluor e α -cloroacetofenona foram reduzidas pelo caminho heterolítico, via transferência direta de hidreto, fornecendo as correspondentes haloidrinas, ao passo que uma cetona mais reativa como a α -bromoacetofenona, foi reduzida pelo caminho homolítico via transferência de elétrons, fornecendo a acetofenona. A α -bromoacetofenona como um substrato mais reativo aparentemente reage rapidamente com NADH pelo processo radicalar em cadeia, independente da enzima; ou porque a bromocetona não está ligada à enzima ou porque a enzima não pode competir com o processo radicalar. Na presença de m-DNB embora o

processo radicalar tenha sido inibido estes autores não detectaram a formação de bromoidrina nas condições de reação. Assim, substratos como as clorocetonas e fluorocetonas não são reativos o suficiente para serem reduzidos por NADH através de um processo radicalar em cadeia e a redução competitiva controlada pela enzima acontece para formar a haloidrina opticamente ativa.



PROCESSO HETEROLÍTICO

ESQUEMA XVII



PROCESSO HOMOLÍTICO

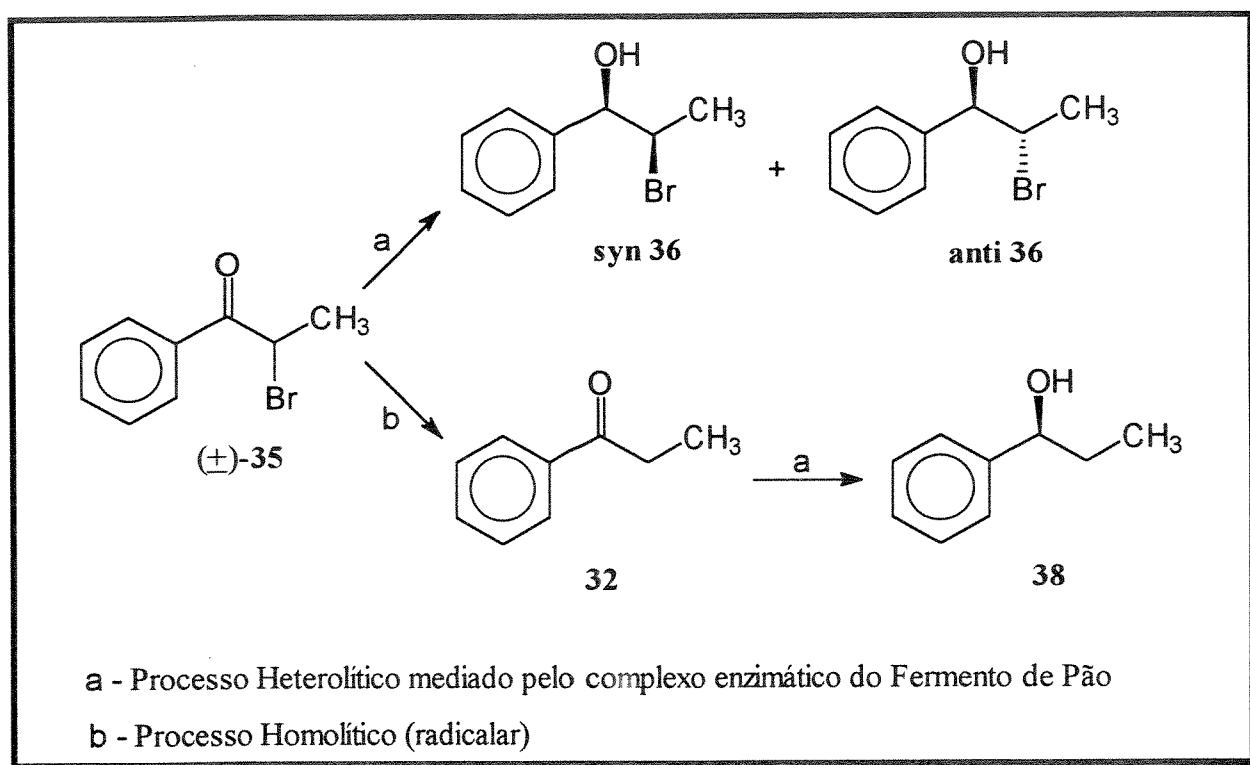
ESQUEMA XVIII

Na redução de α -haloacetofenonas por fermento de pão⁷⁵, os autores observaram um comportamento semelhante na redução de α -fluor e α -cloroacetofenona àquele obtido por Tanner e col.⁷⁶ porém, em relação à bromoacetofenona o comportamento observado foi bem diferente, pois não houve a formação de acetofenona e obteve-se a bromoidrina correspondente com baixo rendimento químico e excelente pureza óptica (9% e 97%

respectivamente). Neste caso o complexo enzimático do fermento de pão tem um maior poder redutor do que o sistema NADH/HLADH na redução da α -bromoacetofenona através de um processo heterolítico.

Na redução de α -iodoacetofenona os autores⁷⁷ observaram a formação de 67% de acetofenona e 32% de (-)-(S)-1-feniletanol. Na presença de m-DNB a formação de acetofenona foi parcialmente inibida e a iodidrina foi obtida com 15% de rendimento químico e pureza óptica de 87%.

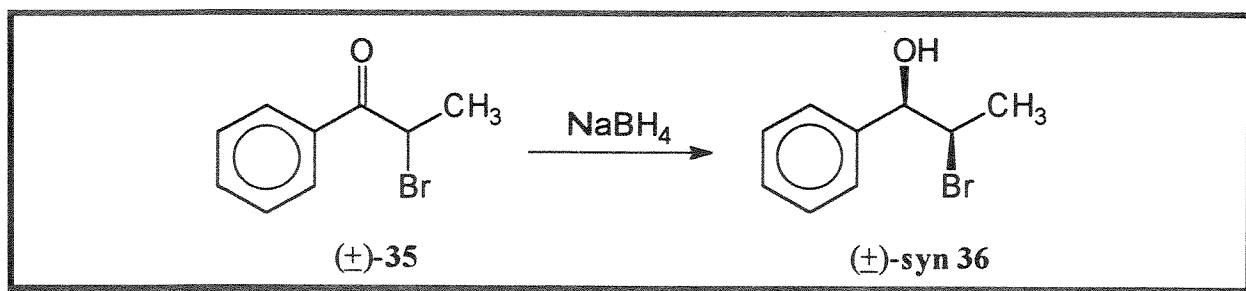
Por analogia aos resultados obtidos nas reduções das α -haloacetofenonas^{75,76,77} podemos inferir que a 2-bromopropiofenona é um substrato mais reativo que a 2-cloropropiofenona e que a sua redução por fermento de pão ocorre através dos mecanismos homolítico e heterolítico propostos por Tanner. Isto porque na presença de m-DNB a formação de propiofenona diminui porém o mecanismo controlado pelo complexo enzimático do fermento não é afetado. Estas considerações podem ser melhor visualizadas no Esquema XIX.



ESQUEMA XIX

Por outro lado, a redução de 2-iodopropiofenona por fermento de pão na presença e ausência de m-DNB, conduziu à formação de propiofenona. Tendo em vista que na presença de m-DNB a formação de propiofenona não foi inibida, pelo contrário, apresentou um aumento em relação à ausência de m-DNB, não temos evidências para afirmar que o mecanismo por transferência de elétrons esteja operante na redução da 2-iodopropiofenona.

III.4.2.1 - Redução de $(\pm)$ -2-bromopropiofenona por NaBH_4 :



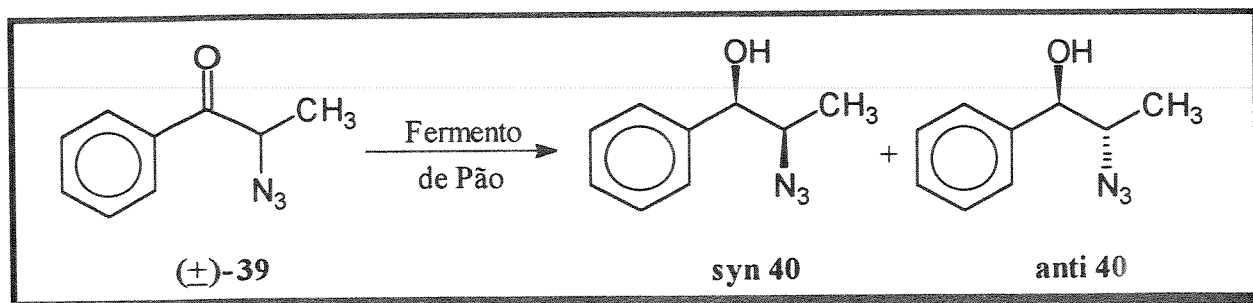
ESQUEMA XX

Reduzimos a $(\pm)$ -2-bromopropiofenona **35** com boroidreto de sódio e obtivemos preferencialmente o isômero **syn** do $(\pm)$ -2-bromo-1-fenil-1propanol (**36**) com um rendimento químico de 60%. Assinalamos a configuração relativa de **36** comparando-se seus dados espectrocópicos de RMN- ^1H com os dados fornecidos pela literatura (δ CHOH 4,62 ppm $J_{\text{vic}} = 7,7$ Hz lit.⁷³ 4,58 ppm e lit.⁷⁴ $J_{\text{vic}} = 7,5$ Hz).

A obtenção preferencial do isômero de configuração relativa **syn** é indicativa que a redução aconteceu pelo mecanismo "dipolar", o qual já foi comentado na redução da $(\pm)$ -2-cloropropiofenona por boroidreto de sódio - item III.4.1.1 - Esquema XIV.

Um resultado similar foi obtido por Shibata e col.⁷⁸ na redução de 2-bromopropiofenona por hidreto de dibutilestanho na presença e ausência de p-DNB (p-dinitrobenzeno). Com o sistema Bu_2SnH_2 obteve-se exclusivamente a propiofenona com um rendimento químico de 30%, ao passo que com o sistema Bu_2SnH_2 -DNB obteve-se 94% do isômero **syn** do 2-bromo-1-fenil-1-propanol e 6% de propiofenona com um rendimento químico de 89%.

III.4.3 - Redução de $(\pm)$ -2-azidopropiofenona (**39**) por Fermento de Pão:



ESQUEMA XXI

Inicialmente, preparamos a $(\pm)$ -2-azidopropiofenona (**39**) reagindo-se a $(\pm)$ -2-bromopropiofenona (**35**) com azida de sódio conforme descrito⁷⁹. Os dados espectroscópicos obtidos para a 2-azidopropiofenona são concordantes com aqueles descritos na literatura⁸⁰.

Submetemos a 2-azidopropiofenona à redução por fermento de pão através dos métodos B, E e F⁸¹. Os resultados obtidos estão indicados na Tabela XI. O método B, cujo tempo de reação foi prolongado para 48 horas, forneceu uma mistura 1,2:1 dos isômeros *syn* e *anti* do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**). Os demais métodos forneceram misturas 1:1 dos isômeros *syn* e *anti*. A configuração relativa dos azido álcoois *syn* e *anti* de **40** foi assinalada através da comparação do seu espectro de RMN-¹H com os dados publicados na literatura. O isômero *syn* apresentou δ CHOH em 4,44 ppm e $J_{\text{vic}} = 7,4$ Hz e lit.⁸² δ CHOH em 4,46 ppm e $J_{\text{vic}} = 7,2$ Hz; o isômero *anti* apresentou δ CHOH em 4,71 ppm e $J_{\text{vic}} = 4,4$ Hz e lit.⁸² δ CHOH em 4,72 ppm e $J_{\text{vic}} = 3,2$ Hz. Determinamos os excessos enantioméricos dos azido álcoois *syn* e *anti* através da técnica de RMN-¹H na presença do reagente de deslocamento quiral (+)-Eu(hfc)₃ (**1**).

Como se pode observar na Tabela XI, a primeira utilização tanto do fermento de pão imobilizado em montmorilonita K10 (FPI em K10) quanto do fermento de pão imobilizado em crisotila (FPI em crisotila), forneceu rendimentos químicos muito superiores (66 e 58% respectivamente) ao rendimento químico da redução com o fermento de pão livre (FPL). Na redução da 2-azidoacetofenona, originando o (R)-(-)-2-azido-1-feniletanol, também foi observado um aumento significativo no rendimento químico com a utilização do FPI em K10 (36 e 45% na primeira e segunda utilizações respectivamente)⁴¹, em relação ao FPL o qual apresentou um rendimento químico de 12% na presença de açúcar e sulfato de zinco⁸³.

Tabela XI - Resultados da Redução da ($\pm$)-2-azidopropiofenona (39) por Fermento de Pão:

Método ^a	RQ/%	ee/%	
		syn 40	anti 40
B	8	82	72
E - 1	66	93	85
E - 2	89	91	89
E - 3	84	93	93
E - 4	77	92	94
E - 5	68	90	89
E - 6	76	91	90
E - 7	84	92	89
F - 1	58	87	88
F - 2	32	90	89
F - 3	74	91	93
F - 4	48	96	81
F - 5	-	-	-

^aMétodo B (Redução sem aditivos), Método E (Redução com Fermento de Pão Imobilizado em Montmorilonita K10), Método F (Redução com Fermento de Pão Imobilizado em Crisotila). A numeração das reações representa a ordem da reutilização do Fermento de Pão Imobilizado.

A redução de **39** com FPI em K10 alcançou um rendimento químico máximo de 89% na segunda utilização, apresentando uma pequena queda na terceira, quarta e quinta utilizações, tornando a aumentar na sexta e sétima utilizações. A partir da sétima utilização não foi feita mais nenhuma redução, porém é possível que o fermento ainda mostrasse atividade em reações posteriores. Naoshima e col.⁸⁴ por exemplo, conseguiram utilizar 12 vezes o mesmo FPI.

Na redução de **39** com FPI em crisotila a segunda utilização apresentou uma queda no rendimento químico porém este aumentou acentuadamente na terceira utilização alcançando um máximo de 74%, tornando a cair na quarta utilização e não mostrando atividade na quinta utilização.

A Figura 18 apresenta um gráfico dos resultados da Tabela XI, facilitando a visualização das considerações feitas logo acima.

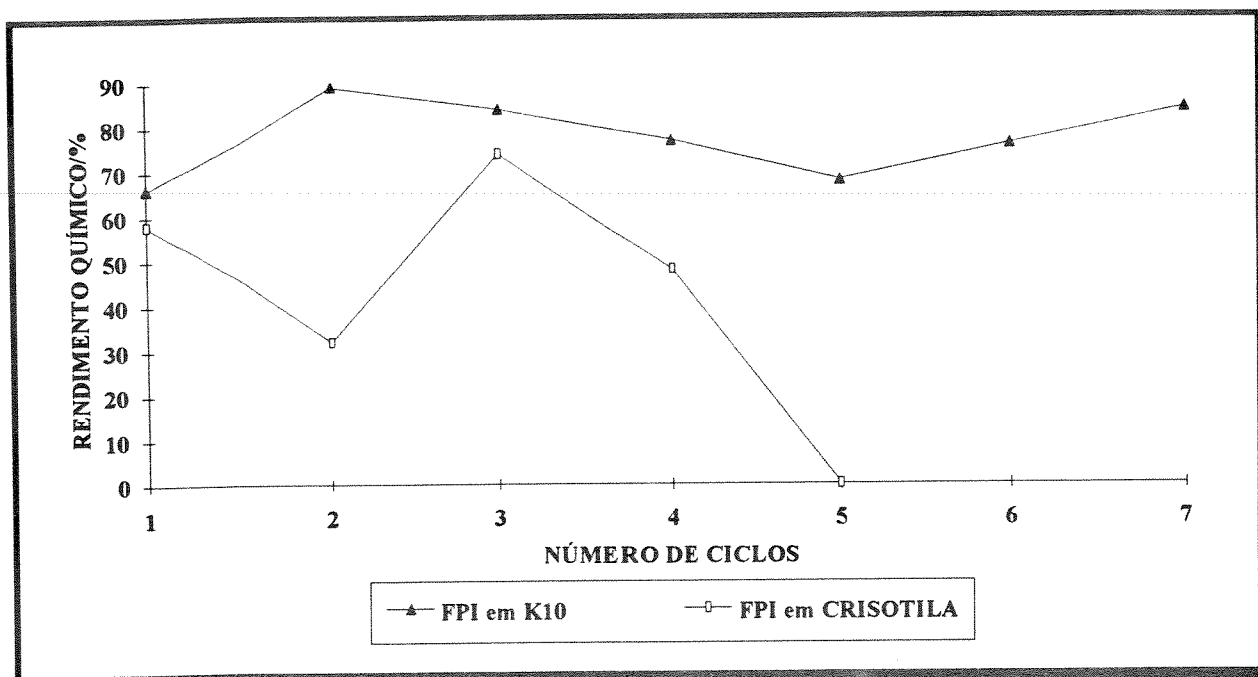


FIGURA 18 - Gráfico dos resultados da Tabela XI que ilustra a dependência do Rendimento Químico em relação à reutilização do Fermento de Pão Imobilizado em Montmorilonita K10 e em Crisotila.

De um modo geral, o excesso enantiomérico obtido nas reduções com FPI em K10 e FPI em crisotila variou pouco no uso repetitivo do catalisador. O isômero **syn 40** na maioria dos casos apresentou um excesso enantiomérico ligeiramente superior ao do isômero **anti 40**. Na redução com FPL o excesso enantiomérico dos isômeros **syn** e **anti** ficou um pouco aquém do excesso enantiomérico obtido nas reduções feitas com FPI.

O bom desempenho do FPI em relação ao FPL deve estar relacionado a uma aceleração no metabolismo celular do fermento de pão devido à adsorção nos materiais argilosos.

Através da literatura de microbiologia de solos, sabe-se que os micróbios aderem prontamente à superfície de argilas e que estas frequentemente fornecem estímulo para o crescimento e a atividade metabólica destes micróbios. Baseando-se nisto, Gerson e Zajic⁸⁵ sugerem que uma possível explicação sobre o aumento da atividade metabólica de células imobilizadas está relacionada à criação de um "micro meio ambiente ideal" em torno de cada célula através do fenômeno local de adsorção.

Observações sobre o estímulo ao processo fermentativo induzido por suportes inorgânicos em contato com células microbiais foram feitas por vários pesquisadores, entre eles podemos citar: Navarro e col.⁸⁶ sobre o estudo fermentativo de *Saccharomyces*

carlsbergensis adsorvido em esferas de vidro porosas; Haider e col.⁸⁷ sobre o aumento no consumo de glicose em culturas de *Saccharomyces cerevisiae* adsorvidas em montmorilonita; Velikanov e col.⁸⁸ sobre o estudo da fermentação de *Saccharomyces cerevisiae* e *S. vini* adsorvidos em asbestos e para finalizar, Ageeva e col.⁸⁹ sobre a aceleração da fermentação e o desenvolvimento das células de fermentos para a produção de vinhos adsorvidos em minerais como paligorsquita, montmorilonita e hidromica, segundo os autores quanto maior a superfície específica efetiva do mineral disperso mais forte é o seu efeito estimulador no metabolismo do microorganismo, assim paligorsquita > montmorilonita > hidromica.

Foram feitas algumas fotografias de amostras de fermento de pão, montmorilonita K10 e FPI em K10 utilizando-se microscópio eletrônico e óptico. Através destas pode-se observar que o fermento de pão apresenta-se como um aglomerado de células. Com a introdução da montmorilonita K10 observa-se que este material promove a dispersão dos aglomerados celulares. Isto pode resultar num aumento da área superficial do fermento facilitando conseqüentemente o contato do substrato com as células, podendo ser uma das causas responsáveis pelo aumento observado no rendimento químico da redução com FPI em relação ao FPL (Figuras 19, 20 e 21).

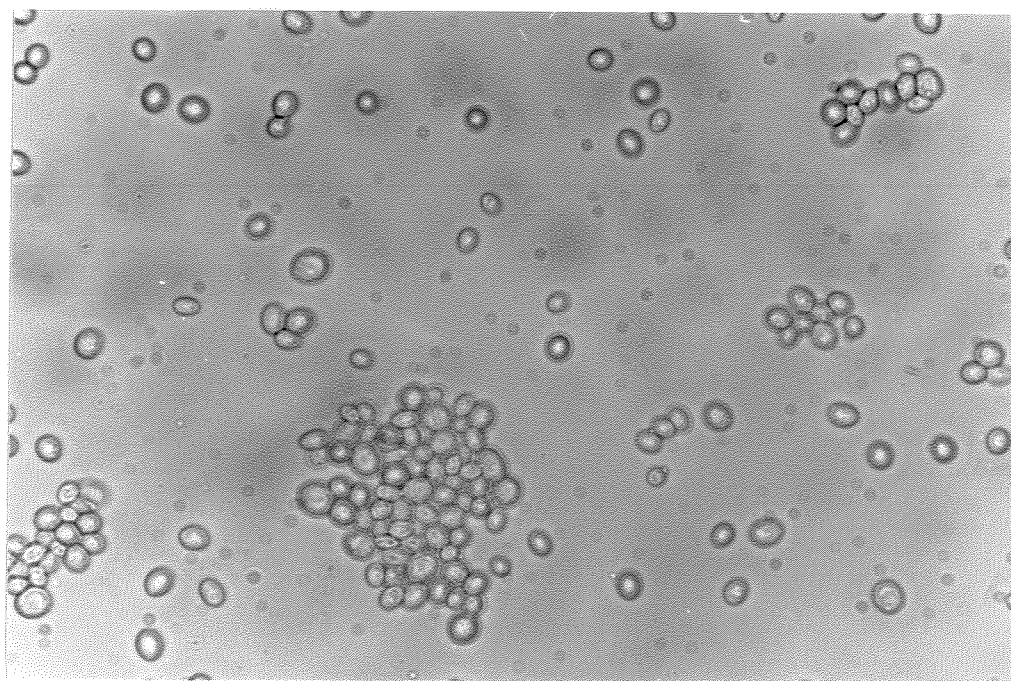


FIGURA 19 - Fotografia de Células Livres de Fermento de Pão feita em Microscópio Óptico.

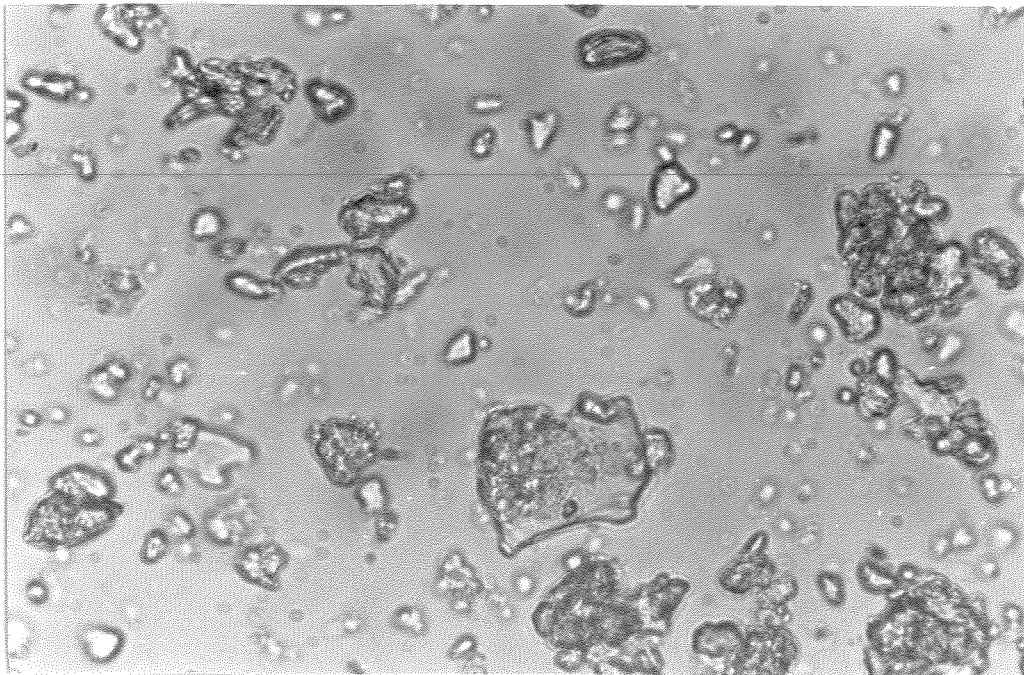


FIGURA 20 - Fotografia de Montmorilonita K10 feita em Microscópio Óptico.

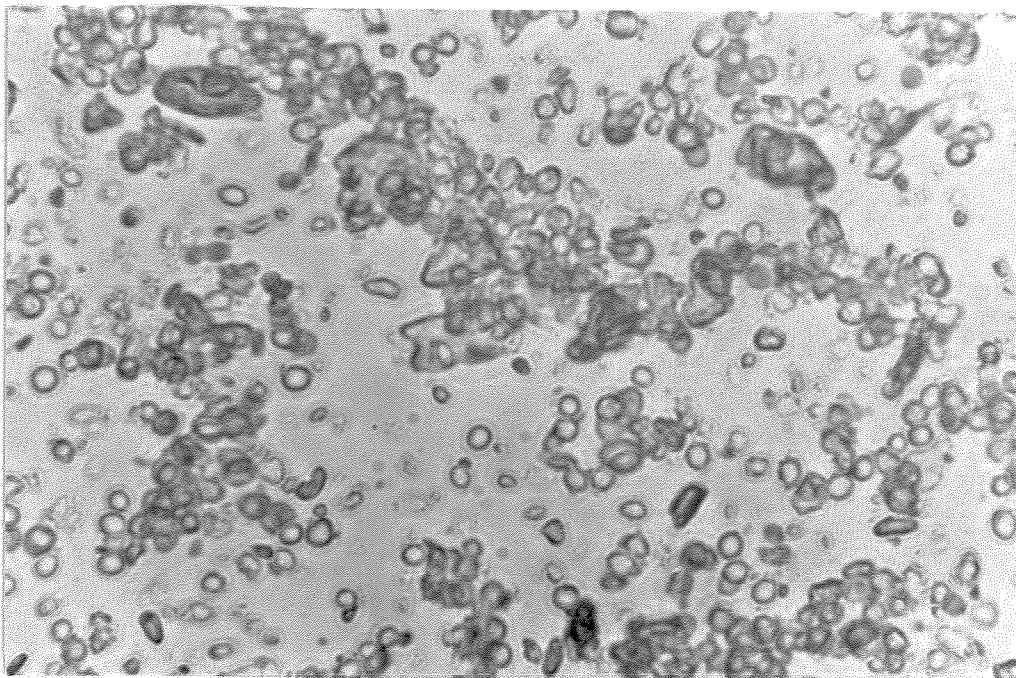


FIGURA 21 - Fotografia do Fermento de Pão Imobilizado em Montmorilonita K10 feita em Microscópio Óptico.

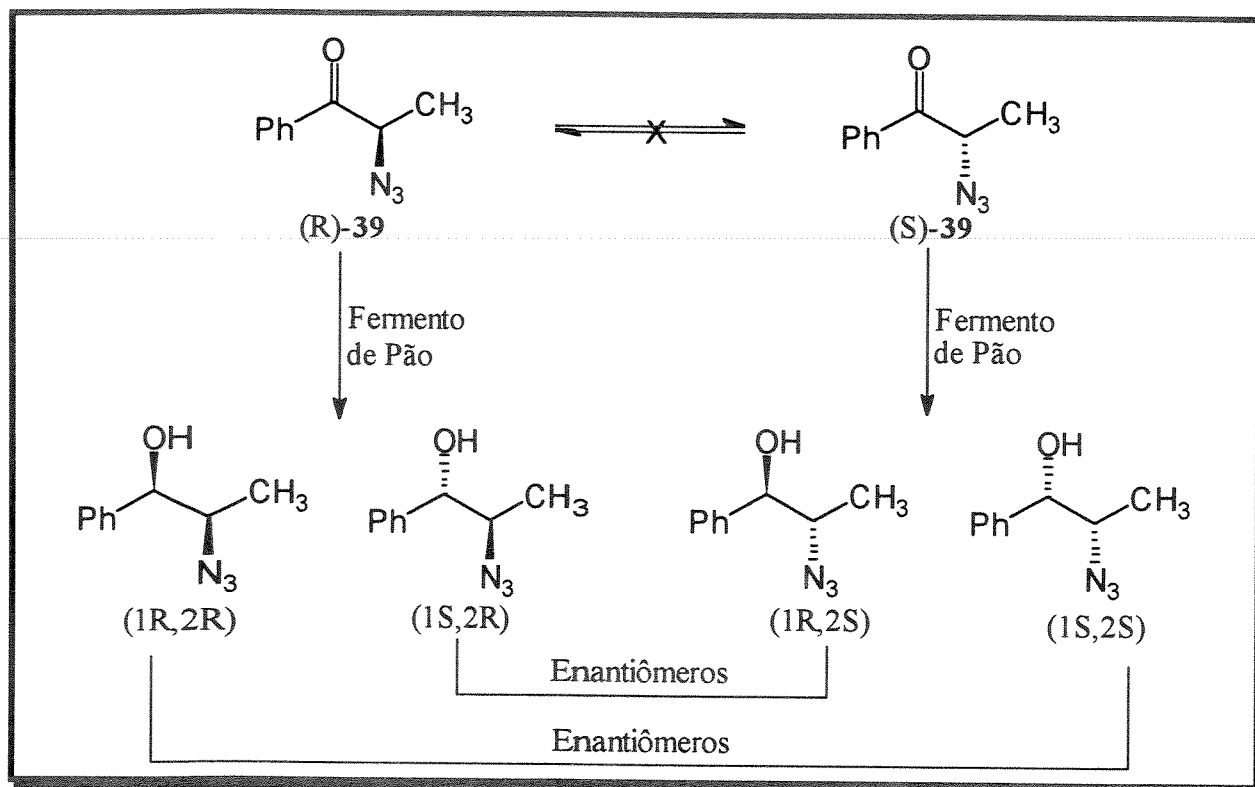
Uma vez que a redução de **39** com FPI em K10 forneceu os isômeros **syn** e **anti** de **40** numa proporção 1:1, foram feitos alguns experimentos para determinar se os isômeros são formados ao mesmo tempo. Assim retirou-se alíquotas da mistura reacional em intervalos apropriados, e após a extração com clorofórmio os produtos foram examinados através de RMN-¹H. Os resultados obtidos estão indicados na Tabela XII, e mostram claramente que o isômero **syn** é formado mais rapidamente que o isômero **anti**. Estes resultados sugerem que a extensão da racemização da 2-azidopropiofenona não é significativa e que o fermento de pão reduz estereoespecificamente ambos os isômeros (R) e (S) da 2-azidopropiofenona como mostra o Esquema XXII.

Tabela XII - Razão **syn/anti** do 2-azido-1-fenil-1-propanol formado na redução da 2-azidopropiofenona por Fermento de Pão Imobilizado em Montmorilonita K10.

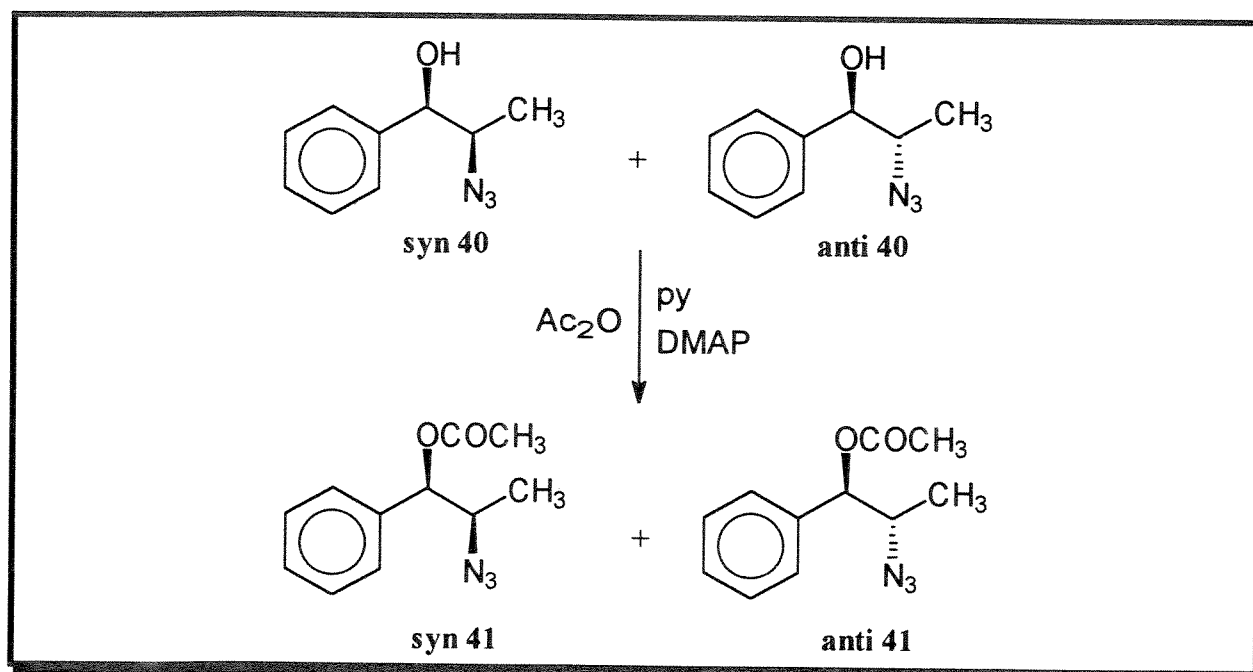
Tempo de Reação/h	syn/anti
3	1,41
6	1,38
24	1,0

A fim de verificar se uma mudança no pH da redução resultaria num controle estereoquímico empregando-se o método B, realizamos experimentos onde manteve-se o pH da redução constante em 3 e 9, retirando-se alíquotas da mistura reacional em intervalos apropriados. Após a extração com clorofórmio as amostras foram examinadas através de RMN-¹H, porém os espectros apresentaram tantos sinais que não foi possível chegar a alguma conclusão.

Foram feitas várias tentativas para separar os isômeros **syn** e **anti** de **40**, entretanto não obtivemos resultados positivos. Procedemos então à transformação dos azido álcoois nos correspondentes derivados acetilados **syn** e **anti** **41** (Esquema XXIII), com o intuito de facilitar a separação. Contudo, esta também não foi possível.

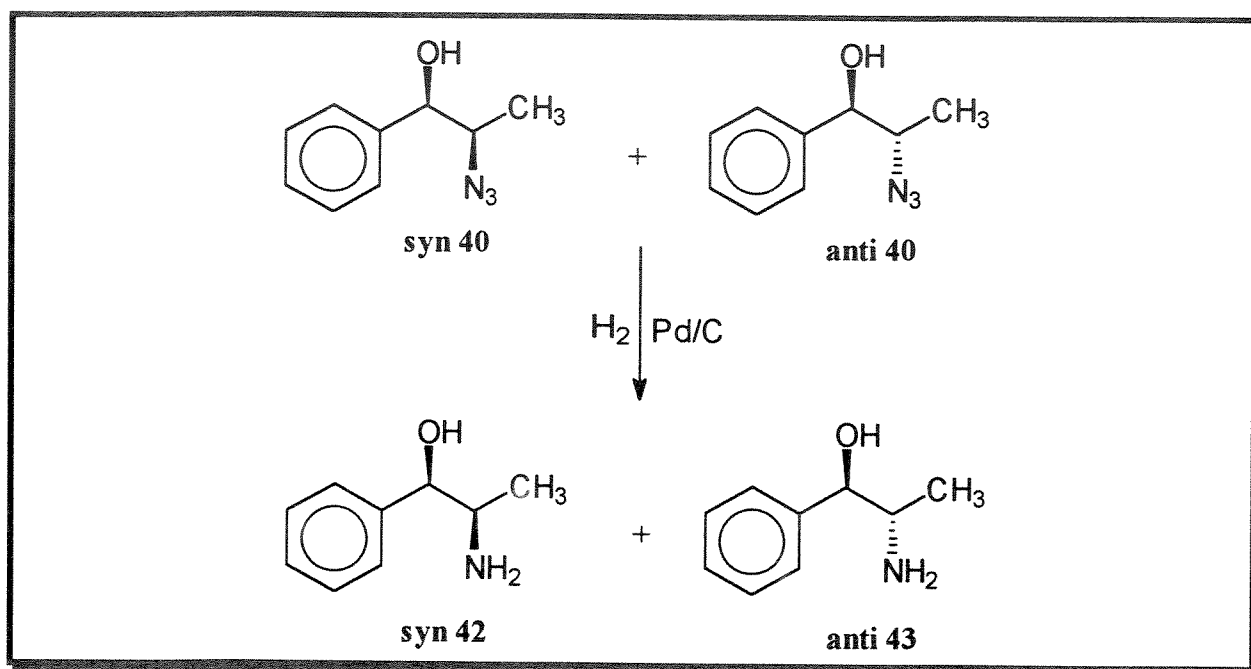


ESQUEMA XXII



ESQUEMA XXIII

A fim de se determinar a configuração absoluta dos isômeros **syn** e **anti** de **40** reduzimos a mistura de azido álcoois através de hidrogenação catalítica ($H_2/Pd-C$) aos correspondentes aminoálcoois **42** e **43** (Esquema XXIV). Os amino álcoois **42** (norpseudoefedrina) e **43** (norefedrina) pertencem à classe de drogas simpatomiméticas oralmente ativas, cujos cloridratos são utilizados como supressores de apetite⁹⁰. O espectro de RMN- 1H obtido para a mistura de amino álcoois **42** e **43** foi comparado satisfatoriamente com os dados publicados na literatura. Assim o isômero **syn** **42** apresentou δ CHOH em 4,32 ppm e $J_{vic} = 7,5$ Hz e lit.⁹¹ δ CHOH em 4,21 ppm e $J_{vic} = 6,6$ Hz e o isômero **anti** **43** apresentou δ CHOH em 4,70 ppm e $J_{vic} = 3,7$ Hz e lit.⁹¹ δ CHOH em 4,45 ppm e $J_{vic} = 4,7$ Hz.



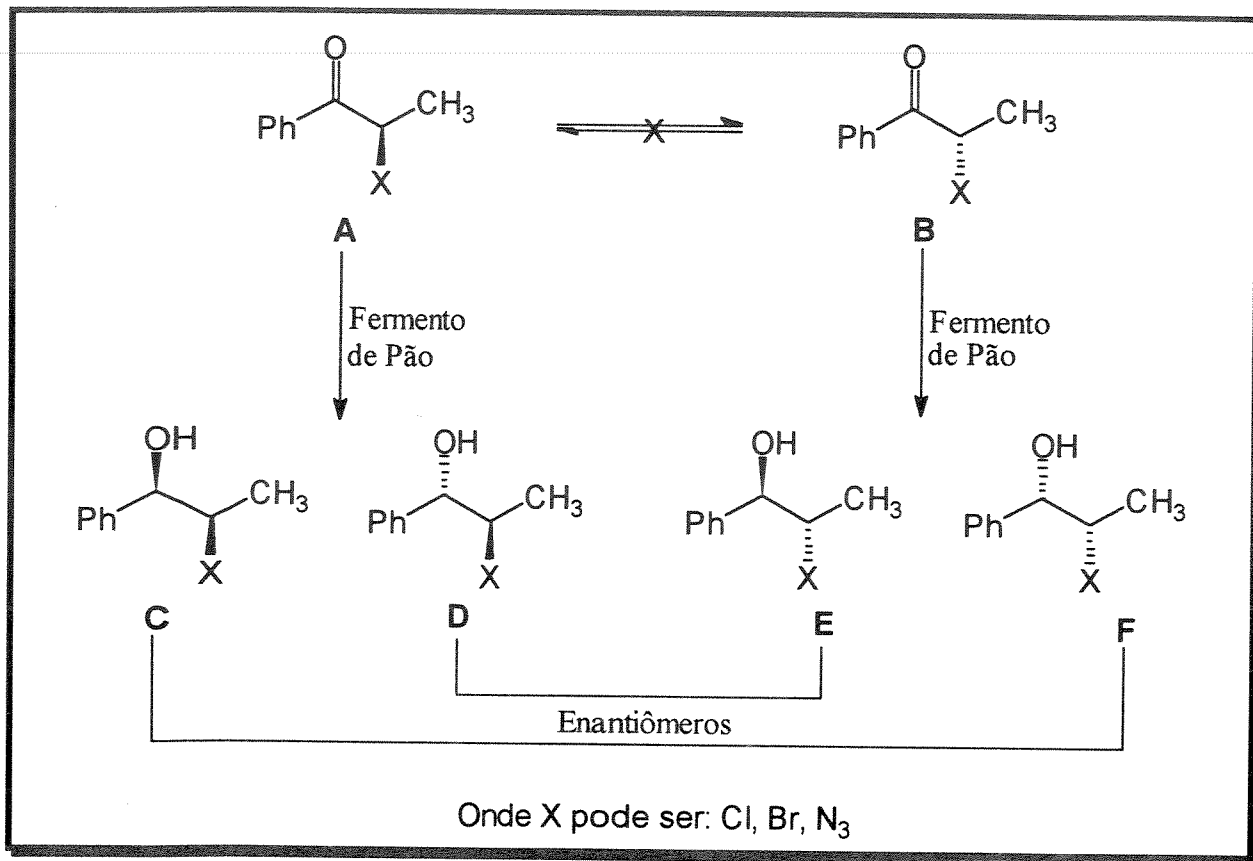
ESQUEMA XXV

A configuração absoluta do isômero **anti** majoritário foi assinalada como (1R,2S), através da técnica de RMN- 1H , utilizando-se o reagente de deslocamento quiral (+)-Eu(hfc)₃ (**1**) e comparando-se com uma amostra padrão de (1S,2R)-(+)-norefedrina. Baseando-se neste resultado, podemos assinalar a configuração do isômero **syn** majoritário como (1R,2R).

Podemos dizer que a redução da 2-azidopropiofenona **39** foi enantiosseletiva formando preferencialmente o centro carbinólico de configuração (R). Este resultado é

concordante com a regra de Prelog levando-se em consideração que o grupo fenila é maior do que a função alquila da 2-azidopropiofenona e que a redução independe da configuração do carbono adjacente à carbonila, que contém o grupo azido. Por outro lado, a configuração do centro quiral adjacente à carbonila que contém o grupo azido pode interferir na velocidade de reação pois observou-se que a azido cetona de configuração R foi reduzida mais rapidamente que azido cetona de configuração S.

III.4.4 - Considerações sobre as Reduções das Fenil Cetonas α -substituídas por Fermento de Pão:



ESQUEMA XXV

$$\frac{\text{syn}}{\text{anti}} = \frac{C + F}{D + E} \quad (5)$$

$$ee \text{ syn} = \frac{C - F}{C + F} \quad (6)$$

$$ee \text{ anti} = \frac{E - D}{E + D} \quad (7)$$

$$C + D + E + F = 1 \quad (8)$$

Com o auxílio do Esquema XXV e das equações 5-8, foi possível racionalizar os resultados obtidos nas reduções das fenil cetonas α -substituídas por fermento de pão, os quais encontram-se indicados na Tabela XIII.

Tabela XIII - Diastereosseletividade das Reduções de Fenil Cetonas α -substituídas por Fermento de Pão conforme o Esquema XXV.

Substrato	C : D	E : F
X = Cl	2,7 : 1	3,9 : 1
X = Br	3,4 : 1	1,6 : 1
X = N ₃ - Método B	8,3 : 1	7,8 : 1
X = N ₃ - Método E	16 : 1	24 : 1
X = N ₃ - Método F	16 : 1	24 : 1

Método B (Redução sem Aditivos), Método E (Redução com Fermento de Pão Imobilizado em Montmorilonita K10, Método F (Redução com Fermento de Pão Imobilizado em Crisotila).

As fenil cetonas empregadas neste trabalho foram utilizadas na sua forma racêmica. Portanto, conforme ilustra o Esquema XXV as cetonas individuais A e B do referido esquema quando submetidas à redução por fermento de pão podem originar dois diastereoisômeros cada.

Através dos dados da Tabela XIII podemos observar que a diastereosseletividade da ($\pm$)-2-cloropropiofenona e ($\pm$)-2-bromopropiofenona foi pequena para ambas as cetonas favorecendo no entanto a formação do isômero **syn** no caso da cetona A (C>D) e favorecendo o isômero **anti** no caso da cetona B (E>F). Entretanto, no caso da redução da ($\pm$)-azidopropiofenona por células livres podemos observar que a diastereosseletividade foi praticamente o dobro em relação às outras cetonas (com o isômero **syn** favorecido para a cetona A, e o isômero **anti** favorecido para a cetona B). Em relação à redução pelo fermento de pão imobilizado, seja em crisotila, seja em montmorilonita a diastereosseletividade da redução se torna muito superior aos outros casos já mencionados, (maior ou igual a quatro vezes os demais resultados).

Com as considerações acima podemos dizer que o grupo azido é um grupo que permite uma melhor discriminação do centro quiral α à carbonila pelas enzimas do fermento de pão, favorecendo a formação do isômero **syn** quando a configuração do centro quiral que contém o grupo azido é (R) e favorecendo a formação do isômero **anti** quando a configuração do centro quiral que contém o azido é (S). De qualquer forma o ataque

acontece preferencialmente na face *Re* do substrato carbonílico de acordo com a regra de Prelog, e considerando-se o grupo fenila como o grupo mais volumoso.

III.5 - Referências Bibliográficas:

-
- ¹Straley, J. M.; Adams, A C. *Org. Synth. Coll.* **1963**, 4, 415.
- ²Ridley, D. D.; Deol, B. S.; Simpson, G.W. *Aust. J. Chem.* **1976**, 29, 2459.
- ³Kenyon, J.; Phillips, H.; Schutt, G. R. *J. Chem. Soc.* **1935**, 1663.
- ⁴Cohen, S. G.; Weintein, S. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86, 725.
- ⁵Soai, K.; Yamanoi, T.; Hikima, H.; Oyamada, H. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1985**, 138.
- ⁶Manzocchi, A.; Casati, R.; Fiecchi, A.; Santaniello, E. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* **1987**, 2753.
- ⁷Kumar, A.; Ner, D. H.; Dike, S. Y. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 1901.
- ⁸Chênevert, R.; Fortier, G. *Chem. Lett.* **1991**, 1603.
- ⁹Dike, S. Y.; Ner, D. H.; Kumar, A. *BioMed. Chem. Lett.* **1991**, 1, 383.
- ¹⁰Kumar, A.; Ner, D. H.; Dike, S. Y. *Ind. J. Chem.* **1992**, 31B, 803.
- ¹¹Robertson, D. W.; Jones, N. D; Swartzendruber, J. K.; Yang, K. S.; Wong D. T. *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 185.
- ¹²Robertson, D. W.; Krushinski, J. H.; Fuller, R. W; Leander, J. D. *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 1412.
- ¹³Chênevert, R.; Fortier, G.; Rhlid, R. B. *Tetrahedron* **1992**, 48, 6769.
- ¹⁴Corey, E. J.; Reichard, G. A. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 5207.
- ¹⁵Srebnik, M.; Ramachandran, P. V.; Brown, H. C. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 2916.
- ¹⁶Gao, Y.; Sharpless, K. B. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 4081.
- ¹⁷Schneider, M. P.; Goergens, V. *Tetrahedron: Asymmetry* **1992**, 3, 525.
- ¹⁸Ohno, S.; Izumi, K.; Mizukoshi, K.; Kato, K.; Hori, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, 31, 1780.
- ¹⁹Mosher, H. A.; Dale, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 512.

-
- ²⁰Trost, B. M.; Belletire, J. L.; Godleski, S.; McDougal, P. G.; Balkovec, J. M.; Baldwin, J. J.; Christy, M. E.; Ponticello, G. S.; Varga, S. L.; Springer, J. P. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2370.
- ²¹Parker, D. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2* **1983**, 83.
- ²²Ridley, D. D.; Stralow, M. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1975**, 400.
- ²³Naoshima, Y.; Maeda, J.; Munakata, Y.; Nishiyama, T.; Kamezawa, M.; Tachibana, H. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 964.
- ²⁴Ward, O. P.; Young, C. S. *Biotechnol. Bioeng.* **1991**, *38*, 1280.
- ²⁵Parker, D. *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 1441.
- ²⁶Itoh, T.; Fukuda, T.; Fujisawa, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1989**, *62*, 3851.
- ²⁷Meyers, A. I.; Slade, J. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 2785.
- ²⁸Wu, S. -Y.; Huashima, A.; Takeya, R.; Eto, M. *Agric. Biol. Chem.* **1989**, *53*, 165.
- ²⁹Brown, R. F. C.; Jackson, W. R.; McCarthy, T. D. *Tetrahedron: Asymmetry* **1993**, *4*, 205.
- ³⁰Brenelli, E. C. S.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R. *Synth. Commun.* **1990**, *20*, 261.
- ³¹Bowlus, S. B.; Katzenellenbogen, J. A. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 3309.
- ³²Witkop, B.; Foltz, C. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 197.
- ³³Ohta, H.; Ozaki, K.; Konishi, J.; Tsuchihashi, G. *Agric. Biol. Chem.* **1986**, *50*, 1261.
- ³⁴Nakamura, K.; Kawai, Y.; Oka, S.; Ohno, A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1989**, *62*, 875.
- ³⁵Ohta, H.; Yamada, H.; Tsuchihashi, G. *Chem. Lett.* **1987**, 2325.
- ³⁶Nakamura, K.; Inoue, K.; Ushio, K.; Oka, S.; Ohno, A. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2589.
- ³⁷Tanner, D. D.; Kharrat, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2968.
- ³⁸Ohno, A.; Yasui, S.; Oka, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1980**, *53*, 3244.
- ³⁹Dedyukhina, E. G.; Eroshin, V. K. *Process Biochem.* **1991**, *26*, 31.
- ⁴⁰MacLeod, R.; Prosser, H.; Fikentscher, L.; Lanyi, J.; Mosher, H. *Biochemistry* **1964**, *3*, 838.

-
- ⁴¹Sorrilha, A. E. P. M. *Redução de Fenilcetonas Por Fermento de Pão Imobilizado*, Tese de Mestrado, **1992**, IQ-UNICAMP.
- ⁴²Sorrilha, A. E. P. M.; Marques, M.; Joekes, I.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R. *BioMed. Chem. Lett.* **1992**, 2, 191.
- ⁴³Takeshita, M.; Sato, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, 37, 1085.
- ⁴⁴Chênevert, R.; Thiboutot, S. *Chem. Lett.* **1988**, 1191.
- ⁴⁵Kometani, T.; Kitatsuji, E.; Matsuno, R. *Chem. Lett.* **1989**, 1465.
- ⁴⁶Prelusky, D. B.; Coutts, R. T.; Pasutto, F. M. *J. Pharm. Sci.* **1982**, 71, 1390.
- ⁴⁷Fujita, M.; Hiyama, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 4629.
- ⁴⁸Jacobsen, E. N.; Markó, I.; Mungall, W. S.; Schroder, O.; Sharpless, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 1968.
- ⁴⁹Zioudrou, C.; Chrysochou, P. *Tetrahedron* **1977**, 33, 2103.
- ⁵⁰Zioudrou, C.; Chrysochou, P.; Karabatsos, G. J.; Herelen, D.; Nipe, R. N. *Tetrahedron Lett.* **1972**, 52, 5293.
- ⁵¹Fuganti, C.; Grasseli, P. *Chem. Ind.* **1977**, 983.
- ⁵²Ohta, H.; Ozaki, K.; Konishi, J.; Tsuchihashi, G. *Agric. Biol. Chem.* **1986**, 50, 1261.
- ⁵³Gao, Y.; Sharpless, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 7538.
- ⁵⁴Kim, B. M.; Sharpless, K. B. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 655.
- ⁵⁵Lohray, B. B.; Ahuja, J. R. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 95.
- ⁵⁶Konishi, J.; Ohta, H.; Tsuchihashi, G. *Chem. Lett.* **1985**, 1111.
- ⁵⁷Ciola, R. *Introdução à Cromatografia em Fase Gasosa*; Edgard Blucher Ltda, Ed. da Universidade de São Paulo, São Paulo, **1973**, pp 188.
- ⁵⁸Dansette, P. M.; Ziffer, H.; Jerina, D. M. *Tetrahedron* **1976**, 32, 2071.
- ⁵⁹Imuta, M.; Ziffer, H. *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 3319.
- ⁶⁰Buisson, D.; El Baba, S.; Azerad, R. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 4453.
- ⁶¹Allenmark, S.; Anderson, S. *Enzyme Microb. Technol.* **1989**, 11, 177.

-
- ⁶²Kosower, E. M.; Cole, W. J.; Wu, G. S.; Cardy, D. E.; Meisters, G. *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 630.
- ⁶³Bellesia, F.; Ghelfi, F.; Pagnoni, U. M.; Pinetti, A. *J. Chem. Research (S)* **1990**, 188.
- ⁶⁴Guthrie, J. P.; Cossar, J. *Can. J. Chem.* **1990**, *68*, 2060.
- ⁶⁵Corey, E. J.; Shibata, S.; Bakshi, R. K. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2863.
- ⁶⁶Imuta, M.; Ziffer, H. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1351.
- ⁶⁷Audier, H. E.; Dupin, J. F.; Julien, J. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1966**, *9*, 2811.
- ⁶⁸Curci, R.; Fiorentino, M.; Serio, M. R. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 155.
- ⁶⁹Ziffer, H.; Imuta, M.; Kawai, K. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 3352.
- ⁷⁰Fuganti, C.; Fronza, G.; Grasselli, P.; Mele, A. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6019.
- ⁷¹Bodot, H.; Dieuzeide, E.; Julien, J. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1960**, 1086.
- ⁷²Cornforth, J. W.; Cornforth, R. H.; Mathew, K. K. *J. Chem. Soc.* **1959**, 112.
- ⁷³Marples, B. A.; Saint, C. G. *Synth. Commun.* **1982**, *12*, 545.
- ⁷⁴Schmid, G. *Can. J. Chem.* **1968**, *46*, 3415.
- ⁷⁵Carvalho, M.; Okamoto, M. T.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 2073.
- ⁷⁶Tanner, D. D.; Stein, A. R. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1642.
- ⁷⁷Carvalho, M.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R.; Aleixo, L. M. *BioMed. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 1637.
- ⁷⁸Shibata, I.; Nakamura, K.; Baba, A.; Matsuda, H. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 6381.
- ⁷⁹Ackrell, J.; Muchowski, J. M. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3374.
- ⁸⁰Effenberger, F.; Beisswenger, T.; Az, R. *Chem. Ber.* **1985**, *118*, 4869.
- ⁸¹Estes resultados foram apresentados no European Symposium on Biocatalysis em Graz, Áustria em setembro de 1993. A serem publicados na revista *Biocatalysis*.
- ⁸²Benaissa, T.; Hamman, S.; Beguin, C. G. *J. Fluorine Chem.* **1988**, *38*, 163.

-
- ⁸³Marques, M. *Síntese de (R)-(-)-Ariletanolaminas Via Redução Microbiológica Utilizando-se Fermento de Pão (Saccharomyces cerevisiae) na Criação do Centro Quiral*, Tese de Mestrado, 1990, IQ-UNICAMP.
- ⁸⁴Naoshima, I.; Nakamura, A.; Nishiyama, T.; Haramaki, T.; Mende, M.; Munakata, Y. *Chem. Lett.* **1989**, 1023.
- ⁸⁵Gerson, D. F.; Zajic, J. E. em *Immobilized Microbial Cells*; Venkatsubramanian, K., Ed.; American Chemical Society: Washington DC, **1979**, pp. 44-46.
- ⁸⁶Navarro, J. M.; Durand, G. *European J. Appl. Microbiol.* **1977**, 4, 243.
- ⁸⁷Haider, K.; Filip, Z.; Martin, J. P. *C.A.* **73**:128109s.
- ⁸⁸Velikanov, L. L.; Zvyagintsev, D. G. *C. A.* **68**:38153u.
- ⁸⁹Ageeva, N. M.; Merzhanian, A.A.; Sobolev, E. M. *Mikrobiologiya* **1985**, 54, 830.
- ⁹⁰Yu, G-S.; Che, D; Freedman, T. B.; Nafie, L. A. *Tetrahedron:Asymmetry* **1993**, 4, 511.
- ⁹¹Hamman, S.; Benaissa, T.; Beguin, C. G. *Magn. Reson. Chem.* **1988**, 26, 621.

CONCLUSÕES

A redução assimétrica de compostos carbonílicos por fermento de pão, seja na forma de células livres, seja na forma de células imobilizadas, mostrou ser uma técnica extremamente viável para a obtenção de álcoois quirais.

Dentre os álcoois obtidos da redução por fermento de pão, alguns como o 3-fenil-3-hidróxipropionato de etila, os isômeros *syn* e *anti* do 2-azido-1-fenil-1-propanol, por exemplo, podem ser úteis como intermediários na síntese de substâncias com atividade biológica.

Uma vez que as reduções efetuadas não foram otimizadas, os resultados obtidos podem ser melhorados e em alguns casos como no das fenil cetonas α -alquil substituídas, um controle estereoquímico pode ser estudado.

Na maioria dos casos as reduções efetuadas na presença de açúcar forneceram rendimentos químicos maiores que as reduções efetuadas sem açúcar. Por outro lado as reduções na ausência de aditivos forneceram melhores rendimentos ópticos que as reduções feitas na presença de açúcar.

A redução empregando-se fermento de pão imobilizado mostra ser uma alternativa viável quando a redução empregando-se células livres não fornece resultados satisfatórios, como foi observado no caso das α -azido cetonas.

Adicionalmente, as reduções com fermento de pão imobilizado são mais rápidas, os produtos de reação são isolados mais facilmente do caldo fermentativo, as reações são mais limpas e o fermento de pão imobilizado pode ser reutilizado várias vezes.

Em resumo, este trabalho mostrou as possibilidades de síntese de algumas substâncias com atividade biológica, entre elas, α -amino álcoois quirais, utilizando-se o fermento de pão na criação do centro quiral carbinólico. A viabilidade econômica da aplicação desta tecnologia na produção de álcoois quirais terá que ser avaliada.

IV - EXPERIMENTOS:

IV.1 - Instrumentos Utilizados:

- **Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear:**

Varian modelo T-60, Bruker modelo AW-80, Bruker modelo AC-300 P, Varian modelo Gemini 300 para a obtenção dos espectros de RMN-¹H, utilizando-se tetracloreto de carbono, tetracloroetileno ou clorofórmio deuterado como solventes. Os deslocamentos químicos estão expressos em ppm, tendo-se tetrametilsilano como referência interna; indicando-se multiplicidade (s, singlete; d, dublete; dq, duplo quarteto; t, triplete; q, quarteto; m, multiplete; l, largo), constante de acoplamento (J) em Hertz e número de prótons respectivamente.

- **Espectroscopia de Infravermelho:**

Perkin Elmer modelo 1430, usando a absorção em 1601 cm⁻¹ de um filme de poliestireno como referência e Perkin Elmer modelo 1600 séries FTIR na obtenção dos espectros de infravermelho, utilizando-se cela de cloreto de sódio ou pastilha de brometo de potássio.

- **Espectrometria de Massa:**

Varian modelo MAT 311A para a obtenção dos espectros de massa a 70 eV.

- **Polarimetria:**

Polarímetro Carl Zeiss modelo Polamat A com lâmpada de mercúrio a 546 e 578 nm e modelo 373147 com lâmpada de sódio a 589 nm para obtenção das medidas de rotação óptica.

- **Microscopia:**

Microscópio eletrônico de varredura Jeol modelo JS-T300, energia do filamento 20 kV, para obtenção das micrografias eletrônicas e microscópio óptico Olympus modelo CB-KA, para a obtenção das fotografias das amostras de fermento de pão, montmorilonita K10, fermento de pão imobilizado em montmorilonita K10.

- **Ponto de Fusão:**

Placa de aquecimento Reichert acoplada a microscópio Mettler modelo FP-5 para a obtenção das medidas de ponto de fusão.

- **Medidas de pH:**

Foram feitas com o pHmetro de bolso Corning, modelo PS 15.

- **Destilação:**

Na purificação da 2-cloropropiofenona utilizou-se o sistema Spinning Band Adiabatic marca Perkin Elmer, modelo 251.

IV.2 - Informações Gerais:

- As reduções microbiológicas com fermento de pão foram extraídas com clorofórmio, utilizando-se um extrator líquido-líquido contínuo¹.
- Nas purificações por cromatografia de coluna utilizou-se sílica gel Merck, sendo que os pares de solventes mais comuns foram hexano/acetato de etila e hexano/diclorometano.
- Nas purificações por cromatografia preparativa foi utilizada uma suspensão de sílica gel GF 254 Fluka, distribuída sobre placas de vidro 20 x 20 cm e reveladas com lâmpada ultravioleta.
- Utilizou-se fermento de pão marca Fleischmann.
- Os solventes comerciais utilizados foram previamente tratados e destilados.
- Os reagentes utilizados foram obtidos de fornecedores e não tiveram purificação prévia.

IV.3 - Descrição Geral dos Procedimentos Empregados nas Reduções Microbiológicas:

IV.3.1 - Redução com Fermento de Pão na Presença de Açúcar e Sulfato de Zinco: **Método A**

Este método baseou-se no procedimento descrito originalmente por Seebach e col.² e teve como modificação a introdução de uma pequena quantidade de sulfato de zinco conforme recomendado por MacLeod e col.³. Em um balão de fundo redondo com duas bocas preparamos uma suspensão de 20 g de fermento de pão comercial fresco em água (10 ml). Juntamos a esta mistura 10 g de açúcar em água (38 ml) e 0,0128 g de sulfato de zinco heptahidratado também em água (1,3 ml) e mantivemos em um banho termostatzado a 30 °C por 30 minutos sob agitação mecânica. Adicionamos 1 mmol de substrato a ser reduzido. Após 24 horas de reação juntamos a esta mistura 7 g de fermento de pão comercial fresco em água (3 ml) e 3 g de açúcar em água (13 ml). Decorridas 72 horas de reação extraímos a mistura com clorofórmio em um extrator líquido-líquido contínuo por 48 horas. O extrato bruto obtido foi purificado através de cromatografia de coluna usando-se misturas apropriadas de solventes. Os produtos obtidos foram caracterizados segundo as técnicas de IV e RMN-¹H.

O progresso da redução pôde ser acompanhado através da retirada de uma amostra após 6 horas de reação a qual foi extraída com clorofórmio em extrator líquido-líquido contínuo por 24 horas e teve o extrato bruto analisado por RMN-¹H.

IV.3.2 - Redução com Fermento de Pão sem Aditivos: Método B

Este método foi adaptado do procedimento original descrito por Torre e col.⁴. Em um balão de fundo redondo com duas bocas, preparamos uma suspensão com 35 g de fermento de pão comercial fresco em água (20 ml) e mantivemos esta suspensão em um banho termostatzado a 30 °C por 30 minutos sob agitação mecânica. Adicionamos a esta suspensão 1 mmol de substrato a ser reduzido. Após 24 horas de reação, extraímos e purificamos a mistura conforme o procedimento descrito no método A. Os produtos obtidos foram caracterizados segundo as técnicas de IV e RMN-¹H.

Acompanhamos o progresso da reação através da retirada de amostras após 1 e 2,7 horas, as quais foram extraídas com clorofórmio em extrator líquido-líquido por 24 horas e tiveram seu extrato bruto analisado por RMN-¹H

IV.3.3 - Redução com Fermento de Pão na Presença de Açúcar: Método C

Este método é idêntico ao método A, porém eliminamos o sulfato de zinco do procedimento experimental.

IV.3.4 - Redução com Fermento de Pão na Presença de m-dinitrobenzeno (m-DNB): Método D

Este método é idêntico ao método B, porém à suspensão de fermento de pão em água adicionamos 0,2 mmol de m-dinitrobenzeno.

IV.3.5 - Redução com Fermento de Pão Imobilizado (FPI) em Montmorilonita K10: Método E

Em um balão de 3 l, juntamos 50 g de FPI em montmorilonita K10, 50 g de açúcar e 1 l de solução de KCl 2%. Mantivemos a mistura a 30 °C em um banho termostatzado por 30 minutos sob agitação mecânica. Após este tempo adicionamos à mistura 3 mmol de substrato a ser reduzido. Após 48 horas de reação, filtramos a mistura à vácuo, saturamos o filtrado com NaCl sólido e extraímos com clorofórmio. Tratamos os extratos orgânicos com sulfato de magnésio anidro e evaporamos o solvente. Purificamos o extrato bruto obtido através de cromatografia preparativa de camada espessa eluída com hexano/acetato de etila (95:5) por quatro vezes. Extraímos o produto desejado da placa cromatográfica com uma mistura de clorofórmio/metanol (90:10), (3 x 30 ml). Após a evaporação do solvente

caracterizamos o extrato por IV e RMN-¹H. Suspendemos o FPI em solução de KCl 2% e armazenamos em geladeira⁵ para ser utilizado em reações subsequentes.

IV.3.6 - Redução com Fermento de Pão Imobilizado (FPI) em Crisotila: Método F

Este método é idêntico ao método E porém utilizando-se o FPI em Crisotila ao invés de FPI em montmorilonita K10.

IV.4 - Imobilização do Fermento de Pão:

IV.4.1 - Imobilização do Fermento de Pão em Montmorilonita K10:

Este procedimento baseou-se naquele descrito originalmente por Sorrilha⁶. Em um bequer de 3l, preparamos uma suspensão de montmorilonita K10 (50 g) em água destilada (2 l) e fermento de pão comercial fresco (50 g). Agitamos a mistura por aproximadamente duas horas e meia. Em seguida filtramos a mistura à vácuo observando-se que o filtrado apresentava-se límpido. Ressuspendemos o fermento de pão imobilizado em 1 l de solução de KCl 2% e armazenamos em geladeira até o momento da utilização.

IV.4.2 - Imobilização do Fermento de Pão em Crisotila^{4,7}:

Em um bequer de 3 l preparamos uma suspensão de crisotila (50 g) em água destilada (2 l) e fermento de pão comercial fresco (40 g). Em seguida procedemos de maneira similar à descrita no item IV.4.1.

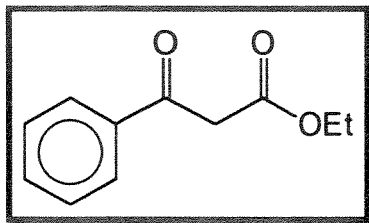
IV.5 - Procedimento para a Determinação de Excesso Enantiomérico (ee):

Determinamos o *ee* dos álcoois ópticamente ativos a partir dos espectros de RMN-¹H aos quais adicionamos o reagente de deslocamento quiral (+)-Eu(hfc)₃ (**1**). Adicionamos o reagente de deslocamento quiral à solução da amostra em clorofórmio deuterado (0,5 ml) em pequenas porções (pelo menos 2), deixando-se reagir por mais ou menos 15 minutos antes de registrar o espectro. Calculamos a proporção dos enantiômeros após a separação dos sinais no espectro por intermédio da integração dos mesmos. A região de absorção dos grupos metila foi a melhor região para se observar a separação dos sinais dos enantiômeros, embora com alguns compostos também tenha sido possível observar esta separação em

outras regiões do espectro. Observamos que uma boa separação dos sinais pôde ser obtida quando se utilizou uma proporção 1:1 em massa do álcool ópticamente ativo e do reagente quiral de deslocamento.

IV.6 - Preparação dos Reagentes:

IV.6.1 - Preparação de Benzoilacetato de Etila⁸ (**2**):

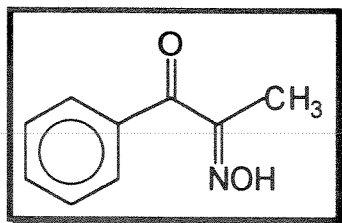


Em um balão de 3 bocas equipado com agitação mecânica e com 2 funis de adição, colocamos 50 ml de água, 25 ml de tolueno e 19,9 g (153 mmol) de acetoacetato de etila previamente destilado (66 °C/ 12 mmHg). Resfriamos a mistura com banho de gelo e adicionamos 6,5 ml de solução de hidróxido de sódio 33%. Mantendo-se a temperatura abaixo de 10 °C e o pH próximo de 11, agitamos a mistura vigorosamente e simultaneamente adicionamos a partir dos dois funis de adição 27 ml de solução de hidróxido de sódio 33% e 23 g (19 ml, 164 mmol) de cloreto de benzoila. A adição foi feita durante 2 horas. Após este tempo removemos o banho de gelo e deixamos a mistura alcançar a temperatura ambiente. Aquecemos a mistura a 35 °C por 1 hora para garantir que a reação se completasse. Em seguida, separamos a camada aquosa à qual adicionamos cerca de 8 g de cloreto de amônio. Deixamos a mistura em agitação lenta por toda a noite. Adicionamos então cerca de 9 g de cloreto de sódio e transferimos a mistura para um funil de separação usando-se 5 ml de benzeno para a lavagem do frasco. Separamos a camada orgânica e lavamos com 10 ml de água fria. Aos extratos combinados foram adicionados mais 4 ml de benzeno e o produto foi destilado a 145-154 °C/14 mmHg; obtendo-se 14,6 g (76 mmol, 50%) de benzoilacetato de etila (**2**), na forma de um óleo amarelo claro.

RMN-¹H(60 MHz, CCl₄): δ 1,20 (t, J = 7,0, 3H, CH₃), 3,80 (s, 2H, COCH₂), 4,15 (q, J = 7,0, 2H, CH₂CH₃), 5,55 (s, H, forma enólica), 7,40 (m, 3H, Ph), 7,80 (m, 2H, Ph).

IV(filme): 2980, 1740, 1690, 1580, 1450, 755, 690 cm⁻¹.

IV.6.2 - Preparação de Isonitrosopropiofenona (44)⁹:

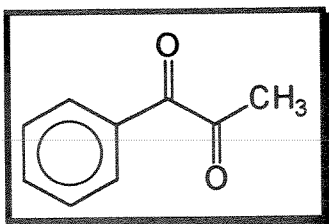


Colocamos em um balão de 3 bocas de 250 ml com agitação magnética e um condensador de bolas, 128 g (134 mmol) de propiofenona e 65 ml de éter etílico. Nas outras 2 bocas do balão conectamos 2 sistemas geradores de gases compostos por um erlenmeyer e um funil de separação. No primeiro sistema colocamos no erlenmeyer 8,01 g de nitrito de sódio em 5 ml de metanol e 5 ml de água; no funil de separação foi colocado 12,5 ml de uma solução de ácido sulfúrico (1:2). No segundo sistema colocamos no erlenmeyer 9,87 g de cloreto de sódio e 10 ml de ácido clorídrico concentrado e no funil de separação correspondente 15,5 ml de ácido sulfúrico concentrado. A mistura do balão foi agitada e os gases gerados pelos dois sistemas, HCl em um caso e nitrito de metila no outro, foram sendo borbulhados lentamente na solução de propiofenona. Com o tempo a solução adquiriu uma cor avermelhada e o éter começou a refluxar suavemente. O borbulhamento dos gases foi feito durante 2 horas com um borbulhamento adicional de HCl por 30 minutos. Deixamos a reação em repouso até o dia seguinte. A solução foi transferida para um funil de separação e extraída com 130 ml de hidróxido de sódio 10% p/v em porções de 14 ml até que o extrato alcalino ficasse quase sem cor ao ser agitado com a solução etérea. Gotejamos esta mistura sobre 51 g de gelo moído em 38 ml de HCl concentrado, observando-se a precipitação de cristais claros que foram filtrados à vácuo. Obtivemos 153 g (93,9 mmol, 97%) de isonitrosopropiofenona como um sólido de cor rosa claro. O produto foi utilizado na preparação da 1-fenil-1,2-propanodiona (20) sem ser purificado.

RMN-¹H(80 MHz, CDCl₃): δ 2,10 (s, 3H, CH₃), 7,50 (m, 3H, Ph), 7,90 (m, 2H, Ph).

IV(KBr): 3260, 1655, 1450, 715, 700, 670 cm⁻¹.

IV.6.3 - Preparação da 1-fenil-1,2-propanodiona (20)¹⁰:

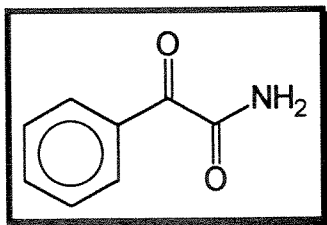


Colocamos em um balão de 3 bocas 13,4 g (82,4 mmol) de isonitrosopropiofenona (44) e 146 ml de uma solução de ácido sulfúrico 10% v/v. Foi feita a destilação por arraste de vapor desta mistura até serem coletados aproximadamente 800 ml de líquido. Separamos a dicetona da fase aquosa e em seguida extraímos com 300 ml de éter. Juntamos os extratos etéreos à dicetona separada inicialmente e tratamos com sulfato de sódio anidro. Evaporamos o solvente obtendo-se 9,79 g (66,2 mmol, 82%) de 1-fenil-1,2-propanodiona (20), na forma de um óleo amarelo.

RMN-¹H(80 MHz, CDCl₃): δ 2,50 (s, 3H, CH₃), 7,50 (m, 3H, Ph), 8,00 (m, 2H, Ph).

IV(filme): 1710, 1670, 1450, 705, 685 cm⁻¹.

IV.6.4 - Preparação de benzoilformamida (13)¹¹:



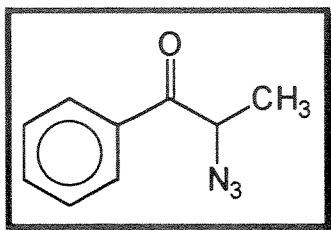
Através de uma suspensão de 4,68 g (35,8 mmol) de cianeto de benzoila (12) em 2,8 ml de HCl concentrado a 0 °C, borbulhamos HCl em quantidade suficiente para manter a mistura em agitação e dissolver completamente o cianeto de benzoila, (cerca de 6 horas). Em seguida derramamos a mistura sobre gelo moído e deixamos em repouso por meia hora. Filtramos a mistura à vácuo obtendo-se 2,34 g (15,7 mmol, 44%) de benzoilformamida (13) como um sólido branco.

RMN-¹H(80MHz, CDCl₃): δ 7,20-8,40 (m, 7H, Ph, NH₂).

IV(KBr): 3640-3000, 3415, 1680-1660 cm^{-1} .

Ponto de Fusão: 74-77,5 $^{\circ}\text{C}$.

IV.6.5 - Preparação de $(\pm)$ -2-azidopropiofenona (**39**)¹²:

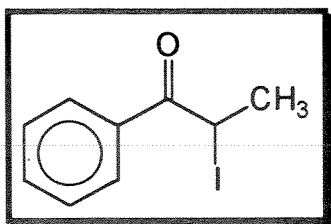


Preparamos uma solução de 2-bromopropiofenona (**35**), 10,7 g (50,1 mmol) em 30 ml de dimetilsulfóxido a 10 $^{\circ}\text{C}$. A esta solução em agitação adicionamos 4,08 g (62,8 mmol) de azida de sódio em uma porção. Acompanhamos o progresso da reação através de cromatografia em camada delgada. Ao final da mesma, colocamos a mistura em água e extraímos o produto com acetato de etila (5 x 60 ml). Lavamos o extrato com água (5 x 60 ml) e com uma mistura de hexano/diclorometano (2:1), (5 x 60 ml) para retirar todo o dimetilsulfóxido. Em seguida tratamos com sulfato de magnésio anidro e evaporamos o solvente. Obtivemos 8,31 g (47,4 mmol, 95%) de 2-azidopropiofenona (**39**) como um óleo amarelo.

RMN- ^1H (300 MHz, CCl_4 , D_2O): δ 1,54 (d, 3H, $J = 7,0$, CH_3), 4,54 (q, 1H, $J = 7,0$, CHN_3), 7,40-7,47 (m, 2H, Ph), 7,52-7,60 (m, 1H, Ph), 7,89-7,93 (m, 2H, Ph).

IV(filme): 3055,6, 2922,2, 2122,2, 2099,7, 1689,9 1449,2, 1217,4, 699,8 cm^{-1} .

IV.6.6 - Preparação de (+)-2-iodopropiofenona (**37**)¹³:

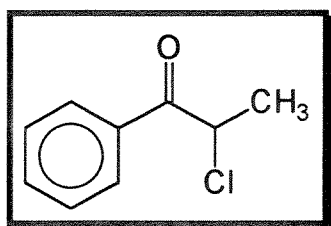


Misturamos 6,11 g (28,7 mmol) de 2-bromopropiofenona (**35**), com 4,53 g (30,2 mmol) de iodeto de sódio em 20 ml de acetona anidra (seca sobre peneira molecular por uma noite e destilada a seguir), à temperatura ambiente por 4 horas. Filtramos a mistura reacional para remover o precipitado de brometo de sódio e evaporamos o solvente. Dissolvemos o resíduo em 50 ml de diclorometano e lavamos com solução de tiosulfato de sódio 5% (2 x 20 ml) para remover o iodo livre. A solução resultante foi tratada com sulfato de magnésio anidro e após a evaporação do solvente obtivemos 6,29 g (24,2 mmol, 84%) de 2-iodopropiofenona como um óleo marrom escuro.

RMN-¹H(80 MHz, CDCl₃): δ 2,0 (d, 3H, J = 6,0, CH₃), 5,3 (q, 1H, J = 6,0), 7,4 (m, 3H, Ph), 7,9 (m, 2H, Ph).

IV(filme): 3060,1, 2919,8, 1677,6, 1447,8, 702,8 cm⁻¹.

IV.6.7 - Preparação de (+)-2-cloropropiofenona (**28**)¹⁴:



Em um balão de 500 ml com 3 bocas equipado com condensador de bolas, agitação magnética e termômetro, adicionamos 122 g (716 mmol) de cloreto de cobre II dihidratado, 12,6 g (297 mmol) de cloreto de lítio e 147 ml de dimetilformamida. Esta mistura foi aquecida a 80 °C em banho de óleo. Em seguida adicionamos aos poucos 33,4 g (250 mmol) de propiofenona previamente destilada (98 °C/15 mmHg). A mistura reacional foi mantida em agitação nesta mesma temperatura por cerca de uma hora e meia e após ter decorrido

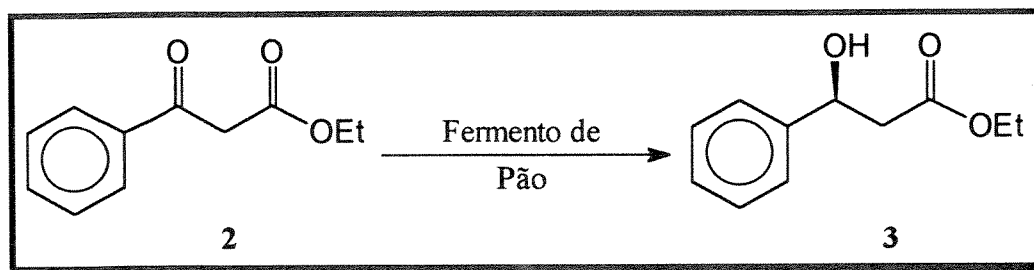
este tempo foi derramada sobre 149 g de gelo moído. Houve a formação de precipitado, o qual foi dissolvido em 80 ml de dimetilformamida. Extraímos a mistura com n-pentano (6 x 50 ml). Combinamos os extratos e lavamos com água (2 x 2 ml). Em seguida tratamos com sulfato de sódio anidro e destilamos o n-pentano. Obtivemos 30,2 g de extrato bruto. Com nova extração da mistura reacional utilizando-se uma mistura de hexano/diclorometano 2:1 (4 x 60 ml), foi possível a obtenção de mais 13,9 g de produto bruto. O primeiro extrato bruto obtido foi destilado no aparelho "spinning band" e rendeu 14,8 g (88,1 mmol, 35%) de 2-cloropropiofenona (**28**) pura na forma de um óleo claro ligeiramente amarelado, fração obtida a 126 °C/ 15 mmHg (lit.¹⁴: 126,5-127 °C/18 mmHg).

RMN-¹H(300 MHz, CDCl₃): δ 1,74 (d, 3H, J = 6,7, CH₃); 5,24 (q, 1H, J = 6,7, CHCl); 7,46-7,51 (m, 2H, Ph); 7,51-7,62 (m, 1H, Ph); 8,00-8,03 (m, 2H, Ph).

IV(filme): 3060, 2940, 1685, 1440, 745, 710, 680 cm⁻¹.

IV.7 - Reduções Utilizando-se Fermento de Pão:

IV.7.1 - Redução de Benzoilacetato de Etila (**2**):



Método A: Empregamos 1,04 g (5,43 mmol) de benzoilacetato de etila (**2**) e após purificação cromatográfica obtivemos 511 mg (2,63 mmol, 49%) de (S)-(-)-3-hidróxi-3-fenilpropionato de etila (**3**) recuperando-se 44,6 mg (0,232 mmol) de benzoilacetato de etila correspondente a 4,3% do material originalmente empregado. O hidróxiéster **3** apresentou $[\alpha]^{20}_D$ - 41,0° (c 1,6 CHCl₃) com pureza óptica de 75%¹⁵.

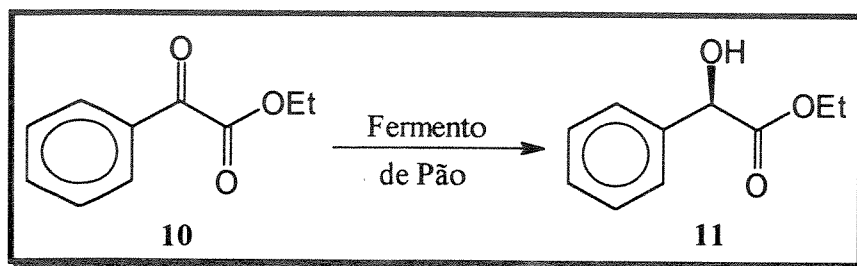
RMN-¹H(80 MHz, CCl₄): δ 1,20 (t, J = 8,0, 3H, CH₃), 2,70 (d, J = 6,0, 2H, CHOHCH₂), 3,10 (s, 1H, OH), 4,10 (q, J = 8,0, 2H, CH₂CH₃), 5,10 (t, J = 6,0, 1H, CHOHCH₂), 7,30 (s, 5H, Ph).

IV(filme): 3450, 2980, 1730, 1450, 760, 700 cm^{-1} .

EM(m/z, %): 195 (5%), 194 (35%), 120 (21%), 107 (100%), 106 (31%), 105 (88%), 91 (25%), 88 (35%), 79 (86%), 77 (71%).

Método B: Empregamos 511 mg (2,66) mmol de benzoilacetato de etila (**2**). Após purificação cromatográfica obtivemos 155 mg (0,798 mmol, 30%) do hidróxiester **3**. Este apresentou $[\alpha]^{20}_{\text{D}} - 44,8^\circ$ (c 1,3 CHCl_3) com pureza óptica de 82%¹⁵ e foi caracterizado como no método A.

IV.7.2 - Redução de Benzoilformiato de Etila (**10**):



Método A: Partimos de 1,04 g (5,85 mmol) de benzoilformiato de etila (**10**) e após purificação cromatográfica obtivemos 724 mg (4,02 mmol, 70%) do (R)-(-)-mandelato de etila (**11**). Este apresentou $[\alpha]^{23}_{\text{D}} - 123^\circ$ (c 1,1 CHCl_3) correspondente a uma pureza óptica de 95%¹⁶. A determinação do excesso enantiomérico do (R)-(-)-mandelato de etila (**11**) foi feita a partir de 44,5 mg (0,247 mmol) e 38,1 mg (0,0319 mmol) do reagente quiral de európio **1** mas não se detectou o outro enantiômero no espectro.

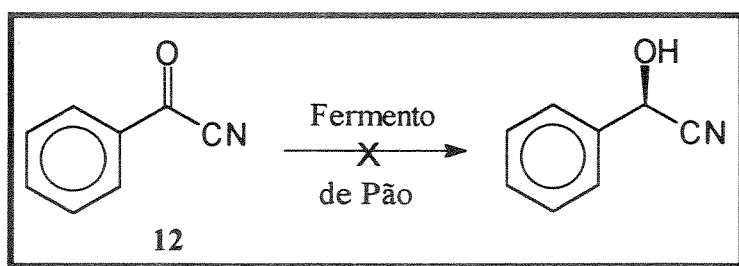
RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 1,21 (t, 3H, $J = 7,1$, CH_3), 4,15 (dq, 1H, $J = 7,1$ e $J = 10,6$, H_R), 4,25 (dq, 1H, $J = 7,1$ e $J = 10,7$, H_S), 3,27 (sl, 1H, OH), 5,14 (s, 1H, PhCH), 7,35 (m, 5H, Ph).

IV(filme): 3446,9, 3063,9, 2982,3, 1734,7, 1455,0, 733,1, 689,4 cm^{-1} .

Método B: Partimos de 1,03 g (5,81 mmol) de benzoilformiato de etila (**10**) e após purificação cromatográfica obtivemos 510 mg (2,83 mmol, 49%) do (R)-(-)-mandelato de

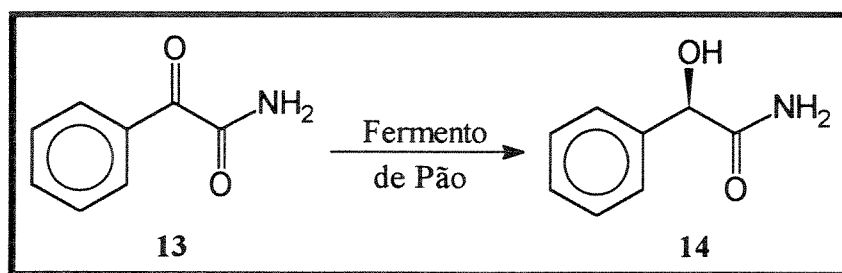
etila (11). Este apresentou $[\alpha]^{23}_D - 117^\circ$ (c 1,1 CHCl_3) correspondente a uma pureza óptica de 90%¹⁶. A determinação do *ee* foi feita a partir de 44,6 mg (0,248 mmol) do hidróxiester 11 para 38,9 mg (0,0326 mmol) do reagente quiral de európio 1; entretanto não se detectou o outro enantiômero no espectro. O (R)-(-)-mandelato de etila (11) foi caracterizado como no método A.

IV.7.3 - Redução de Cianeto de Benzoila (12):



Método B: Partimos de 113 mg (0,86 mmol) de cianeto de benzoila (12) e a análise por RMN- ^1H do extrato bruto indicou que não houve redução recuperando-se o reagente de partida.

IV.7.4 - Redução de benzoilformamida (13):



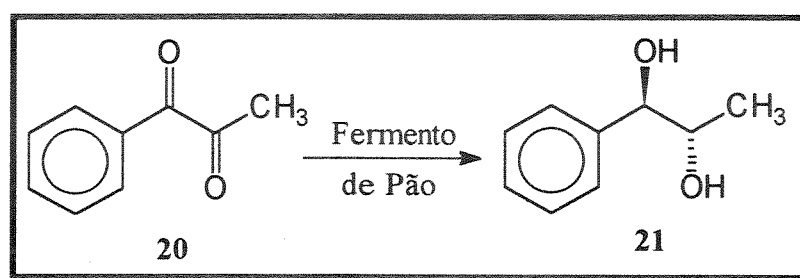
Método A: Empregamos 1,01 g (6,75 mmol) de benzoilformamida (13). Após purificação por recristalização em etanol obtivemos 631 mg (4,18 mmol, 62%) (R)-(-)-mandelamida (14). Este apresentou $[\alpha]^{20}_D - 73,8^\circ$ (c 1,5 acetona) correspondente a uma pureza óptica de 97%¹⁷.

RMN-¹H(80 MHz, CDCl₃): δ 1,60 (s, 2H, NH₂), 3,50 (s, 1H, OH), 5,10 (s, 1H, CHOH), 7,40 (s, 5H, Ph).

IV(KBr): 3400, 3620-3000, 1670, 1650, 1500, 1455, 1435, 1195, 1100, 1070, 705, 610 cm⁻¹.

Ponto de Fusão: 120,5-121,8 °C.

IV.7.5 - Redução da 1-fenil-1,2-propanodiona (20):



Método A: Partimos de 520 mg (3,51 mmol) de 1-fenil-1,2-propanodiona (20) e após purificação cromatográfica obtivemos 474 mg (3,16 mmol, 90%) do **anti** (1R,2S)-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (21). Este apresentou $[\alpha]^{20}_D$ - 37,9° (c 1,2 CHCl₃).

RMN-¹H(80 MHz, CDCl₃): δ 1,01 (d, J = 6,3, 3H, CH₃), 2,80 (s, 2H, OH), 3,95 (dq, 1H, CHCH₃), 4,63 (d, J = 4,1, 1H, PhCH), 7,31 (s, 5H, Ph).

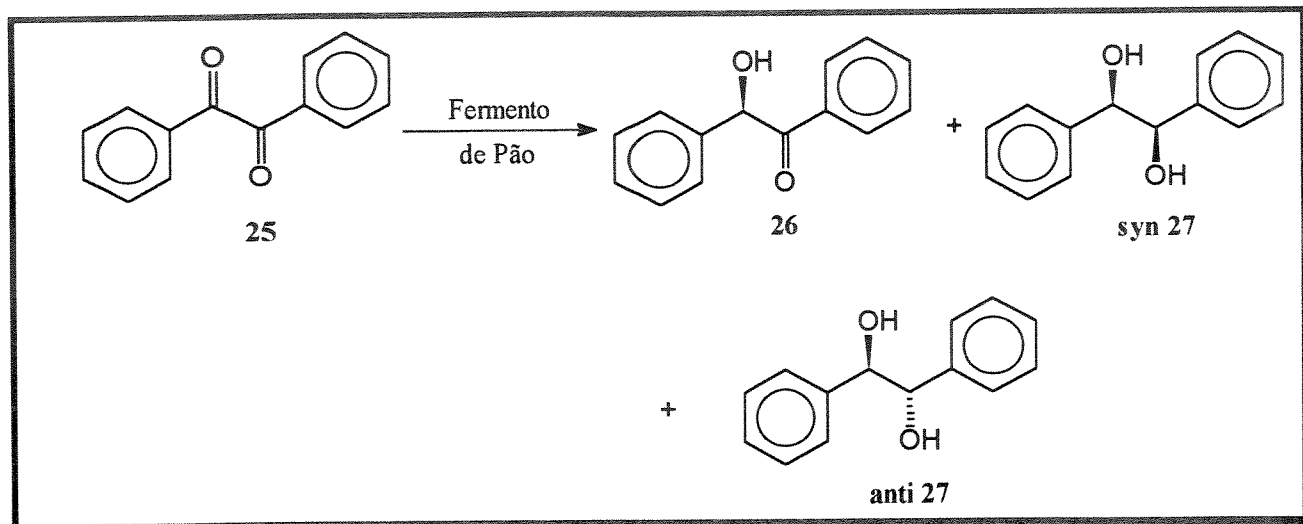
IV(filme): 3400, 3040, 2990, 1455, 750, 710 cm⁻¹.

EM(m/z): 109(14%), 108(100%), 107(96%), 105(18%), 91(14%), 90(10%), 89(6%), 80(11%), 79(98%), 78(14%), 77(60%).

Método B: Partimos de 510 mg (3,44 mmol) de 1-fenil-1,2-propanodiona (20) e após purificação cromatográfica obtivemos 351 mg (2,33 mmol, 68%) do **anti** (1R,2S)-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (21). Este apresentou $[\alpha]^{20}_D$ - 44,3° (c 1,3 CHCl₃), e foi caracterizado como no método A.

Método C: Partimos de 519 mg (3,51 mmol) de 1-fenil-1,2-propanodiona (**20**) e após purificação cromatográfica obtivemos 395 mg (2,63 mmol, 75%) do *anti* (1R,2S)-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (**21**). Este apresentou $[\alpha]_D^{20} - 37,6^\circ$ (c 1,1 CHCl₃), e foi caracterizado como no método A.

IV.7.6 - Redução de Benzila (**25**):



Método A: Partimos de 507 mg (2,41 mmol) de benzila (**25**) e após purificação cromatográfica obtivemos 305 mg (1,44 mmol, 60%) de benzoína (**26**) a qual apresentou $[\alpha]_D^{25} - 25,8^\circ$ (c 1,2 acetona), correspondente a uma pureza óptica de 23%¹⁸ 100 mg (0,467 mmol, 19%) de 1,2-difenil-1,2-etanodiol (**27**) como uma mistura de isômeros *syn* e *anti* e recuperou-se 47,3 mg (0,226 mmol, 9%) de benzila (**25**).

RMN-¹H(80 MHz, CDCl₃): Benzoína (**26**) δ 4,50 (s, 1H, OH), 5,90 (s, 1H, CHOH), 7,20-7,60 (m, 8H, Ph), 7,80-8,00 (m, 2H, Ph).

RMN-¹H(80 MHz, CDCl₃): 1,2-difenil-1,2-etanodiol (**27**) δ 2,40 (s, 2H, OH), 4,80 (s, 2H, CHOH), 7,30 (s, 10H, Ph).

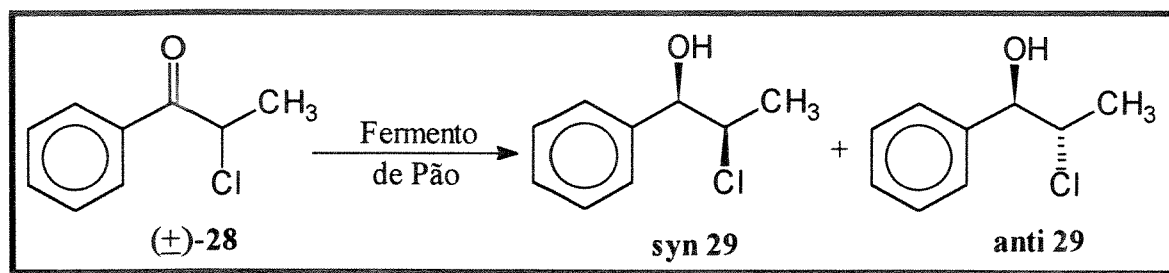
IV(KBr): Benzoína (**26**): 3420, 3380, 1680, 1595, 1575, 1490, 1445, 1385, 1260, 1220, 1205, 1175, 1080, 1070, 975, 755, 705, 695, 600, 510 cm⁻¹.

IV(KBr): 1,2-difenil-1,2-etanodiol (**27**): 330, 3320, 3060, 3040, 2900, 1495, 1450, 1420, 1345, 1275, 1195, 1030, 1020, 915, 820, 755, 700, 610, 525 cm^{-1} .

Ponto de Fusão: Benzoína (**26**) 131-133 $^{\circ}\text{C}$.

Método B: Partimos de 504 mg de benzila (**25**) e após purificação cromatográfica obtivemos 208 mg (0,981 mmol, 41%) de benzoína (**26**) a qual apresentou $[\alpha]_D^{25} - 47,8^{\circ}$ (c 1,6 acetona), correspondente a uma pureza óptica de 42%¹⁸ e 115 mg (0,535 mmol, 22%) de 1,2-difenil-1,2-etanodiol (**27**) como uma mistura de isômeros *syn* e *anti*. Na determinação do excesso enantiomérico da benzoína (**26**) utilizando-se (+)-Eu(hfc)₃ (**1**) empregamos 33,4 mg (0,157 mmol) de **26** e 32,6 mg (0,0273 mmol) de **1**, obtendo-se um excesso enantiomérico de 29%, calculado a partir das áreas dos prótons benzílicos dos enantiômeros.

IV.7.7 - Redução de ($\pm$)-2-cloropropiofenona (**28**):



Método A: Partimos de 537 mg (3,18 mmol) da 2-cloropropiofenona (**28**) e após a purificação cromatográfica obtivemos 101 mg (0,595 mmol, 19%) de uma mistura 1:1 dos isômeros *syn* (1R, 2R) e *anti* (1R, 2S) do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (**29**) recuperando-se 44,2 mg (0,262 mmol, 8%) da 2-cloropropiofenona (**28**).

RMN-¹H(300 MHz, CDCl_3): *syn* δ 1,36 (d, 3H, $J = 6,7$, CH_3), 4,16-4,25 (m, 1H, CHCl), 4,57 (d, 1H, $J = 7,6$, CHOH); *anti* δ 1,37 (d, 3H, $J = 6,7$, CH_3), 4,26-4,34 (dq, 1H, $J = 6,7$ e $J = 3,8$, CHCl), 4,92 (d, 1H, $J = 3,8$, CHOH); 2,52 (sl, 2H, OH), 7,27-7,49 (m, 10H, Ph).

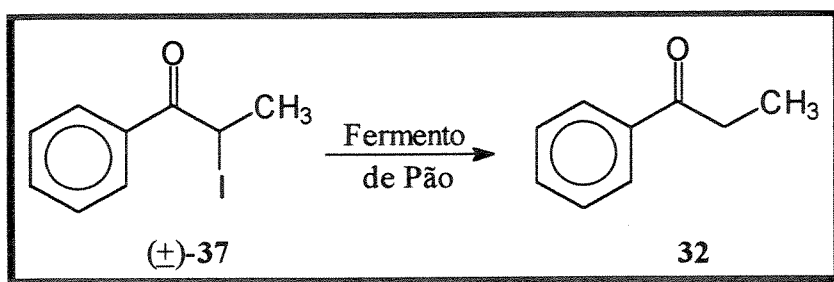
IV(filme): 3400, 3020, 2970, 1445, 750, 690 cm^{-1} .

Método B: Partimos de 1,01 g (5,97 mmol) de 2-cloropropiofenona (**28**) e após a purificação cromatográfica obtivemos 165 mg (0,967 mmol, 16%), de mistura dos isômeros *syn* e *anti* na proporção 1,2:1 do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (**29**), recuperando-se 82,6 mg (0,490 mmol, 8%) da 2-cloropropiofenona (**28**). Aumentando-se o tempo de reação para 48 horas e partindo-se de 3,01 g (17,9 mmol) de 2-cloropropiofenona (**28**), obtivemos após purificação cromatográfica 1,22 g (7,19 mmol, 40%) de uma mistura 1:1 dos isômeros *syn* e *anti* do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (**29**). Foi feita análise com reagente de deslocamento quiral empregando-se 54,7 mg (0,321 mmol) da mistura de cloroidrinas de **29** e 30,3 mg (0,0254 mmol) do reagente de európio obtendo-se um *ee* de 63% para o isômero *syn* e 40% para o isômero *anti*. Separamos os diastereoisômeros por cromatografia de coluna usando hexano/diclorometano como solvente; o isômero *syn* do 2-cloro-1-fenil-1-propanol apresentou $[\alpha]^{23}_D - 26,4^\circ$ (c 0,5 CHCl₃) e o isômero *anti* apresentou $[\alpha]^{25}_D - 18,3^\circ$ (c 0,5 CHCl₃).

RMN-¹H(80 MHz, CCl₄): *syn* δ 1,30 (d, 3H, J = 6,0, CH₃), 2,20 (sl, 1H, OH), 4,10 (m, 1H, CHCl), 4,50 (d, 1H, J = 6,0, CHOH), 7,30 (s, 5H, Ph).

RMN-¹H(80 MHz, CCl₄) *anti* δ 1,30 (d, 3H, J = 6,0, CH₃), 2,10 (sl, 1H, OH), 4,20 (m, 1H, CHCl), 4,80 (d, 1H, J = 3,6, CHOH) 7,20 (s, 5H, Ph).

IV.7.8 - Redução da (+)-2-iodopropiofenona (**37**):



Método B: Partimos de 1,01 g (3,90 mmol) de 2-iodopropiofenona (**37**) e após purificação cromatográfica obtivemos 138 mg (1,03 mmol, 27%) de propiofenona (**32**) e 4,34 mg de 1-fenil-1-propanol (**38**) (0,0319 mmol).

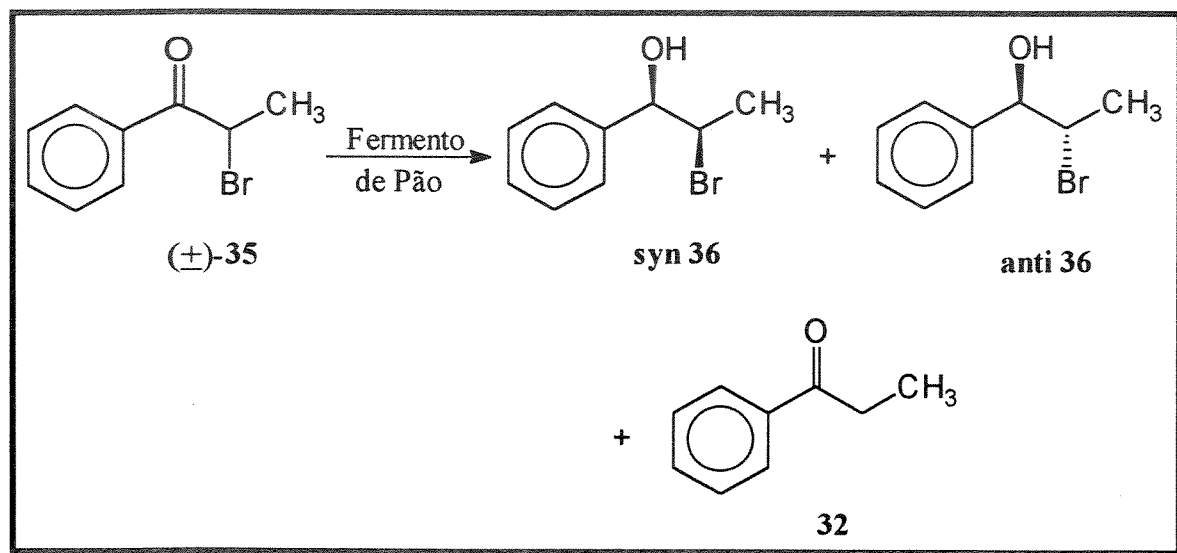
RMN-¹H(80 MHz, CDCl₃): Propiofenona (**32**) δ 1,20 (t, 3H, J = 8,0, CH₃), 2,90 (q, 2H, J = 8,0, CH₂), 7,50 (m, 3H, Ph), 7,90 (m, 2H, Ph).

RMN-¹H(300 MHz, CDCl₃): 1-fenil-1-propanol (**38**) δ 0,921 (t, 3H, J = 7,4, CH₃), 1,71-1,88 (m, 3H, CH₂ e OH sobrepostos), 4,60 (t, 1H, J = 6,5, CHOH), 7,34 (s, 5H, Ph).

IV(filme): Propiofenona (**32**) 3061,0, 2978,0, 1687,1 1482,2, 1448,6, 745,5, 690,5 cm⁻¹.

Método D: Partimos de 1,00 g (3,86 mmol) de 2-iodopropiofenona (**37**) e 135 mg (0,805 mmol) de m-DNB. Após a purificação cromatográfica obtivemos 178 mg (1,33 mmol, 35%) de propiofenona (**32**), a qual foi caracterizada como no método B.

IV.7.9 - Redução de (+)-2-bromopropiofenona (**35**):



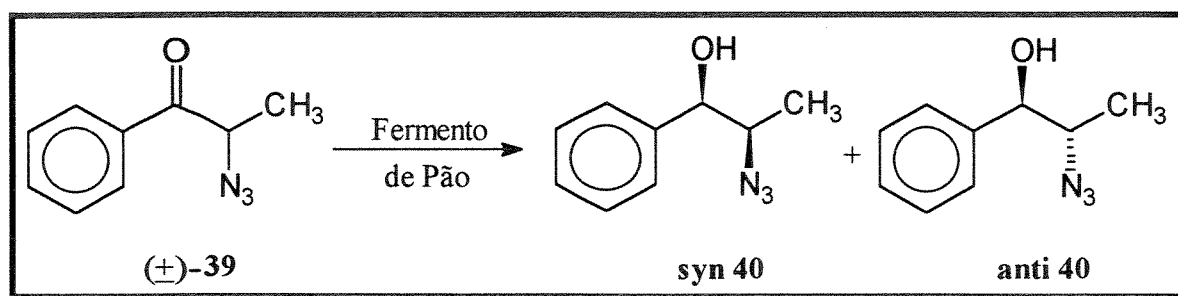
Método B: Partimos de 1,03 g (4,84 mmol) de 2-bromopropiofenona (**35**). Após a purificação cromatográfica por coluna obtivemos 48,3 mg (0,360 mmol, 7%) de propiofenona (**32**) e 37,7 mg (0,175 mmol, 4%) de uma mistura 2:1 dos isômeros **syn** e **anti** do 2-bromo-1-fenil-1-propanol (**36**). A determinação do *ee* foi feita empregando-se 26,3 mg (0,122 mmol) da mistura diastereoisomérica das bromoidrinas de **36** e 30,7 mg (0,0257 mmol) do reagente quiral de európio (**1**) obtendo-se 66% para o isômero **syn** e 6% para o isômero **anti**.

RMN-¹H(300 MHz, CCl₄, D₂O): **anti** δ 1,49 (d, 3H, J = 6,9, CH₃), 2,37 (sl, 1H, OH), 4,33-4,36 (dq, 1H, J = 3,3 e J = 6,9, CHBr), 4,95 (d, 1H, J = 3,3, CHOH); **syn** δ 1,54 (d, 3H, J = 6,8, CH₃), 2,55 (sl, 1H, OH), 4,20-4,25 (m, 1H, CHBr), 4,51 (d, 1H, J = 7,7, CHOH); 7,19-7,33 (m, 10H, Ph).

Método D: Partimos de 1,05 g (4,92 mmol) de 2-bromopropiofenona (**35**) e 171 mg (1,02 mmol) de m-DNB. Após purificação cromatográfica obtivemos 28,5 mg (0,212 mmol, 4%) de propiofenona (**32**) e 39,4 mg (0,183 mmol, 4%) 2-bromo-1-fenil-1-propanol (**36**) como uma mistura 1,7:1 dos isômeros **syn** e **anti** correspondentes. A determinação de *ee* foi feita empregando-se 27,8 mg (0,129 mmol) da mistura de bromoidrinas de **36** e 36,9 mg (0,0309 mmol) de (+)-Eu(hfc)₃ (**1**) e obtivemos um *ee* de 69% para o isômero **syn** e 8% para o isômero **anti**.

RMN-¹H(300 MHz, CDCl₃): **syn** δ 1,56 (d, 3H, J = 6,9, CH₃), 4,61 (d, 1H, J = 7,7, CHOH), 2,55 (sl, 1H, OH); **anti** δ 1,54 (d, 3H, J = 6,6, CH₃), 2,81 (sl, 1H, OH), 5,00 (d, 1H, J = 3,5, CHOH); 4,31-4,44 (m, 2H, CHBr), 7,27-7,39 (m, 10H, Ph).

IV.7.10 - Redução de ($\pm$)-2-azidopropiofenona (**39**):



Método B: Empregamos 1,02 g (5,82 mmol) de 2-azidopropiofenona (**39**) e deixamos reagir por 48 horas. Após a purificação cromatográfica do extrato bruto obtivemos 86,7 mg (0,489 mmol, 8%) de uma mistura 1,2:1 dos isômeros **syn** e **anti** do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**), recuperando-se 108 mg (0,617 mmol, 11%) de 2-azidopropiofenona (**39**). A mistura de azido álcoois **syn** e **anti** foi submetida à cromatografia preparativa por camada espessa numa tentativa de separar os diastereoisômeros. Conseguiu-se um enriquecimento do isômero **syn** na mistura, a qual foi utilizada posteriormente na análise do *ee*. Na

determinação do excesso enantiomérico com (+)-Eu(hfc)₃ (**1**) usando-se 36,9 mg (0,208 mmol) da mistura de azidoálcoois de **40** para 36,5 mg (0,0306 mmol) do reagente de európio obtivemos um *ee* de 82% para o isômero **syn** e 72% para o isômero **anti**.

RMN-¹H(300 MHz, CDCl₃): **syn** δ 1,10 (d, 3H, J = 6,6, CH₃); 4,44 (d, 1H, J = 7,4, CHOH); **anti** δ 1,18 (d, 3H, J = 6,6, CH₃); 4,71 (d, 1H, J = 4,4, CHOH); 2,63 (sl, 2H, OH); 3,61-3,72 (m, 2H, CHN₃); 7,29-7,46 (m, 10H, Ph).

IV(filme): 3422,0, 2104,2, 1603,9, 1493,4, 1453,4, 1379,4, 1259,2, 1023,3, 988,7, 762,3, 702,1 cm⁻¹.

Método E:

1ª Reação - Partimos de 509 mg (2,90 mmol) de 2-azidopropiofenona (**39**) e após purificação cromatográfica do extrato bruto obtivemos 337 mg (1,90 mmol, 66%) de um óleo amarelo claro correspondente à mistura 1:1 dos isômeros **syn** e **anti** do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**). Os produtos desta reação e das reações subseqüentes foram caracterizados como no método B. Determinamos o *ee* empregando-se 49,4 mg (0,279 mmol) da mistura de azido álcoois e 49,6 mg (0,0420 mmol) de (+)-Eu(hfc)₃, obtendo-se 93% para o isômero **syn** e 85% para o isômero **anti**.

2ª Reação - Utilizando-se o FPI em K10 proveniente da primeira reação, Partimos de 520 mg (2,97 mmol) de 2-azidopropiofenona (**39**). Após a purificação cromatográfica obtivemos 468 mg (2,64 mmol, 89%) de um óleo amarelo claro correspondente à mistura 1:1 dos isômeros **syn** e **anti** do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**). Determinamos o *ee* empregando-se 24,6 mg (0,139) da mistura de azido álcoois e 22,2 mg (0,0186 mmol) de (+)-Eu(hfc)₃, obtendo-se 91% para o isômero **syn** e 89% para o isômero **anti**.

3ª Reação - Utilizando-se o FPI em K10 proveniente da segunda reação, Partimos de 517 mg (2,95 mmol) de 2-azidopropiofenona (**39**) e após a purificação cromatográfica do extrato bruto obtivemos 441 mg (2,49 mmol, 84%) de um óleo amarelo claro correspondente à mistura 1:1 dos isômeros **syn** e **anti** do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**). Determinamos o *ee* utilizando-se 31,1 mg (0,176 mmol) da mistura de azido álcoois e 37,8 mg (0,0317 mmol) de (+)-Eu(hfc)₃ (**1**), obtendo-se um *ee* igual a 93% para ambos os isômeros.

4ª Reação - Utilizando-se o FPI em K10 proveniente da terceira reação, Partimos de 506 mg (2,89 mmol) de 2-azidopropiofenona (**39**). Após a purificação do extrato bruto obtivemos 396 mg (2,23 mmol, 77%) de um óleo amarelo claro correspondente à mistura 1:1 dos isômeros **syn** e **anti** do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**). Determinamos o *ee* utilizando-se 30,4 mg (0,171 mmol) da mistura de azido álcoois e 37,1 mg (0,0311 mmol) de (+)-Eu(hfc)₃ (**1**), obtendo-se 92% para o isômero **syn** e 94% para o isômero **anti**.

5ª Reação - Utilizando-se o FPI em K10 proveniente da quarta reação, Partimos de 516 mg (2,94 mmol) de 2-azidopropiofenona (**39**) e após purificação do extrato bruto obtivemos 356 mg (2,01 mmol, 68%) de um óleo amarelo claro correspondente à mistura 1:1 dos isômeros **syn** e **anti** do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**). Determinamos o *ee* utilizando-se 28,7 mg (0,162 mmol) da mistura de azido álcoois e 25,0 mg (0,0210 mmol) de (+)-Eu(hfc)₃ (**1**), obtendo-se 90% para o isômero **syn** e 89% para o isômero **anti**.

6ª Reação - Utilizando-se o FPI em K10 proveniente da quinta reação, Partimos de 507 mg (2,90 mmol) de 2-azidopropiofenona (**39**) e após a purificação cromatográfica obtivemos 388 mg (2,19 mmol, 76%) de um óleo amarelo claro correspondente à mistura 1:1 dos isômeros **syn** e **anti** do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**). Determinamos o *ee* utilizando-se 27,5 mg (0,155 mmol) da mistura de azido álcoois e 32,5 mg (0,0272 mmol) de (+)-Eu(hfc)₃ (**1**), obtendo-se 91% para o isômero **syn** e 90% para o isômero **anti**.

7ª Reação - Utilizando-se o FPI em K10 proveniente da sexta reação, Partimos de 508 mg (2,90 mmol) de 2-azidopropiofenona (**39**) e após a purificação cromatográfica obtivemos 432 mg (2,44 mmol, 84%) de um óleo amarelo claro correspondente à mistura 1:1 dos isômeros **syn** e **anti** do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**). Determinamos o *ee* utilizando-se 26,9 mg (0,152 mmol) da mistura de azido álcoois e 32,7 mg (0,0274 mmol) de (+)-Eu(hfc)₃ (**1**), obtendo-se 92% para o isômero **syn** e 89% para o isômero **anti**.

Método F:

1ª Reação - Empregamos 205 mg (1,17 mmol) de 2-azidopropiofenona (**39**) e após purificação através de cromatografia preparativa obtivemos 120 mg (0,676 mmol) de uma mistura 1:1 dos isômeros **syn** e **anti** do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**), equivalente a um rendimento químico de 58%. Na determinação do *ee* empregamos 22,6 mg (0,128 mmol) da mistura de azido álcoois e 25,7 mg (0,0215 mmol) do reagente quiral de európio **1** obtendo-se um *ee* de 87% para o isômero **syn** e 88% para o isômero **anti**.

2ª Reação - Utilizando-se o FPI em crisotila proveniente da primeira reação, empregamos 201 mg (1,15 mmol) da azidocetona **39** e após a purificação por cromatografia preparativa obtivemos 65,8 mg (0,371 mmol) de uma mistura 1:1 de azido álcoois **syn** e **anti** do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**), com um rendimento químico de 32%. Na determinação do *ee* empregamos 31,5 mg (0,177 mmol) da mistura de azido álcoois e 42,9 mg (0,0360 mmol) de Eu(hfc)₃ (**1**), obtendo-se um *ee* de 90% para o isômero **syn** e 89% para o isômero **anti**.

3ª Reação - Utilizando-se o FPI em crisotila proveniente da segunda reação, empregamos 202 mg (1,15 mmol) de azidocetona **39** e após a purificação por cromatografia preparativa obtivemos 151 mg (0,852 mmol) de uma mistura 1:1 de azido álcoois **syn** e **anti** do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**), com um rendimento químico de 74%. Determinamos o *ee* empregando-se 37,7 mg (0,213 mmol) da mistura de azido álcoois e 50,8 mg (0,426 mmol) do reagente quiral de európio e obtivemos 91% para o isômero **syn** e 93% para o isômero **anti**.

4ª Reação - Utilizando-se o FPI em crisotila proveniente da terceira reação, empregamos 200 mg (1,14 mmol) de 2-azidopropiofenona (**39**) e após purificar-se o extrato bruto obtivemos 97,8 mg (0,552 mmol) de uma mistura 1:1 dos isômeros **syn** e **anti** do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**), com um rendimento químico de 48%. O *ee* foi determinado a partir de 17,0 mg (0,0960 mmol) da mistura de azido álcoois e 24,6 mg (0,0206 mmol) de Eu(hfc)₃, obtendo-se um *ee* de 96% para o isômero **syn** e 81% para o isômero **anti**.

5ª Reação - A partir desta reação não se observou a redução da 2-azidopropiofenona (**39**).

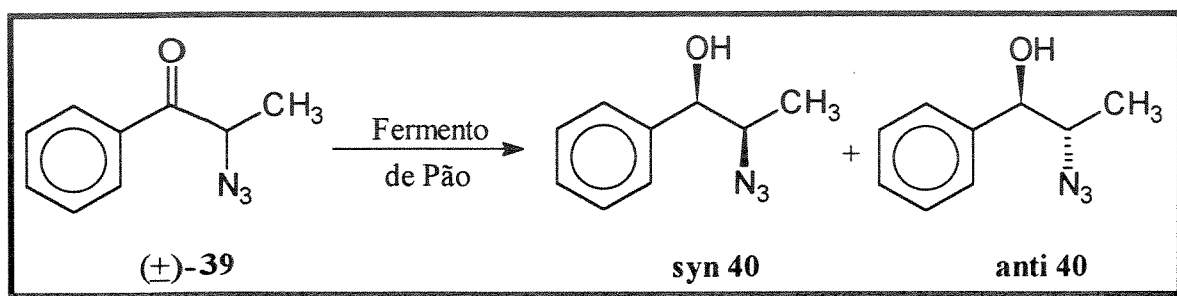
IV.7.11 - Redução de ($\pm$)-2-azidopropiofenona (**39**) a pH 3:

Método B: Partimos de 1,20 g (6,85 mmol) de 2-azidopropiofenona (**39**) e deixamos reagir por 48 horas. Mantivemos a reação a pH 3 durante o período mencionado através da adição de solução de HCl 1M. Retiramos alíquotas da mistura de reação após 10 e 32 horas de reação. As amostras foram extraídas e após a evaporação do solvente tiveram o extrato bruto analisado por RMN-¹H, porém, o espectro obtido apresentou muitos sinais e não foi possível fazer a sua atribuição.

IV.7.12 - Redução de (+)-2-azidopropiofenona (39) a pH 9:

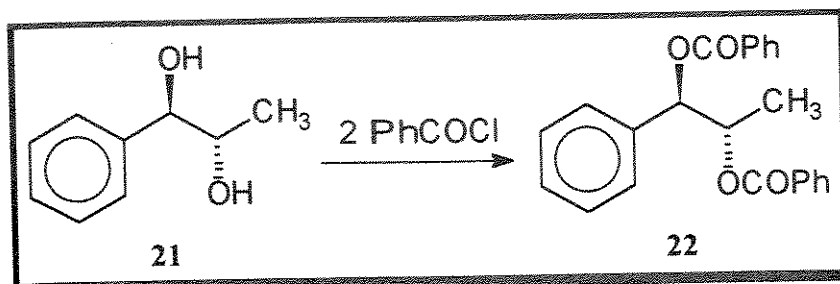
Método B: Partimos de 1,20 g (6,85 mmol) de 2-azidopropiofenona (39) e deixamos reagir por 24 horas. Mantivemos a reação a pH 9 durante o período mencionado através da adição de solução de NaOH 1M. Decorrido o tempo de reação neutralizou-se a mistura de reação e extraímos com clorofórmio. Após a evaporação do solvente analisamos o extrato bruto da reação por RMN-¹H. O espectro obtido apresentou muitos sinais e não foi possível fazer a sua atribuição.

IV.7.13 - Redução de 2-azidopropiofenona (39) Com Acompanhamento da Reação Através da Retirada de Aliquotas:



Método E: Partimos de 506 mg (2,89 mmol) de 2-azidopropiofenona (39). Retiramos alíquotas da reação nos períodos correspondentes a 3, 6 e 24 horas. Filtramos as alíquotas à vácuo, saturamos a fase aquosa com NaCl sólido e extraímos com clorofórmio (5 x 50 ml). Após o tratamento dos extratos orgânicos com sulfato de magnésio anidro evaporamos o solvente e analisamos o extrato bruto das amostras por RMN-¹H. A amostra retirada após 3 h de reação forneceu uma razão **syn/anti** = 1,41 dos isômeros do 2-azido-1-fenil-1-propanol (40) que foi medida através da integração dos sinais dos prótons carbinólicos no espectro de RMN-¹H dos respectivos isômeros. A amostra retirada após 6 h forneceu uma razão **syn/anti** = 1,38 a qual foi obtida de forma idêntica à da amostra após 3 h de reação. A amostra após 24 h forneceu uma razão **syn/anti** = 1,0 e a razão foi obtida de modo similar às amostras anteriores.

IV.8 - Outras Reações:

IV.8.1 - Reação de Benzoilação do *anti* (1R,2S)-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (**21**)¹⁹:

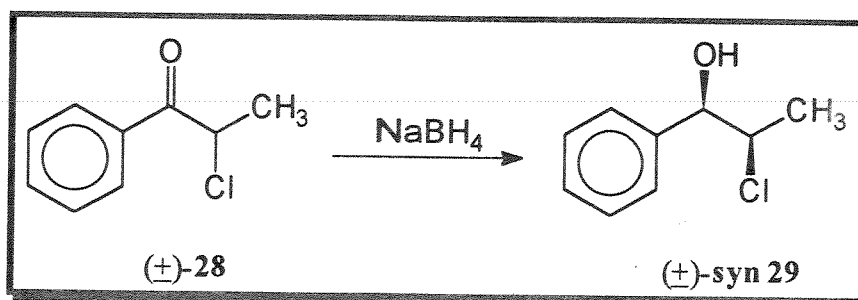
Em um balão de 25 ml colocamos 268 mg (0,74 mmol) de 1-fenil-1,2-propanodiol (**21**) proveniente do método A do item IV.7.5, 0,4 ml de piridina, 4,3 ml de diclorometano e 0,64 ml (5,52 mmol) de cloreto de benzoila. Agitamos esta mistura por 12 horas à temperatura ambiente. Em seguida fizemos a neutralização com HCl diluído, extraímos a mistura com diclorometano (3 x 10 ml) e tratamos o extrato com sulfato de magnésio anidro. Após a evaporação do solvente obtivemos 398 mg (1,11 mmol, 63%) de um sólido branco correspondente ao dibenzoato **22** que foi recristalizado em metanol. Este apresentou $[\alpha]_D^{20} + 59,0^\circ$ (c 1,2 CHCl₃).

RMN-¹H(80 MHz, CDCl₃): δ 1,40 (d, J = 6,0, 3H, CH₃), 5,40-5,75 (m, 1H, CHCH₃), 6,30 (d, J = 4,0, 1H, PhCH), 7,18-7,60 (m, 11H, Ph), 7,88-8,18 (m, 4H, Ph).

IV(KBr): 3080, 3060, 3030, 2990, 2920, 1710, 1600, 1450, 1315, 1295, 1275, 1250, 1110, 1070, 1025, 710 cm⁻¹.

Ponto de Fusão: 93-94 °C.

IV.8.2 - Redução de 2-cloropropiofenona (**28**) com NaBH_4 ²⁰:

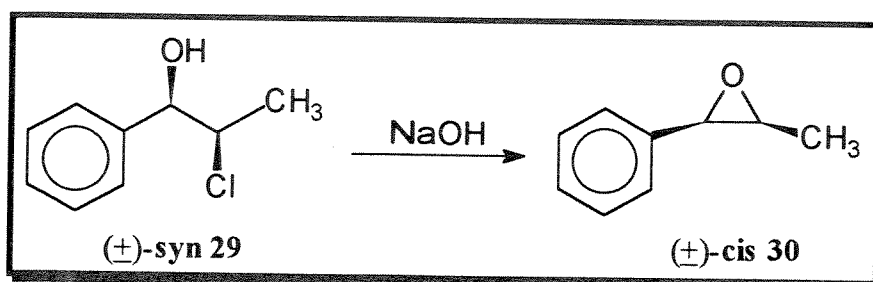


A uma solução de 1,07 g (6,35 mmol) de 2-cloropropiofenona **28** em 12,5 ml de metanol a 0 °C, adicionamos 483 mg (11,9 mmol) de boroidreto de sódio durante aproximadamente 1 hora. Mantivemos a mistura em agitação por uma hora com o progresso da reação sendo acompanhado por placa cromatográfica. Tratamos a reação com solução aquosa de HCl a 5% até pH ácido. Saturamos a fase aquosa com NaCl e extraímos com éter etílico (3 x 30 ml). Os extratos foram reunidos e tratados com sulfato de magnésio anidro. Com a evaporação do solvente obtivemos 983 mg (5,77 mmol, 91%) do isômero (±)-**syn** do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (**29**).

RMN-¹H(300 MHz, CDCl_3): δ 1,36 (d, 3H, $J = 6,6$, CH_3), 2,84 (sl, 1H, OH), 4,15-4,24 (m, 1H, CHCl), 4,56 (d, 1H, $J = 7,5$, CHOH), 7,31-7,38 (m, 5H, Ph).

IV(filme): 3416,7, 3063,6, 2979,4, 1453,3, 765,7, 702,2, cm^{-1} .

IV.8.3 - Reação de Epoxidação de **syn** (±) 2-cloro-1-fenil-1-propanol (**29**)²¹:



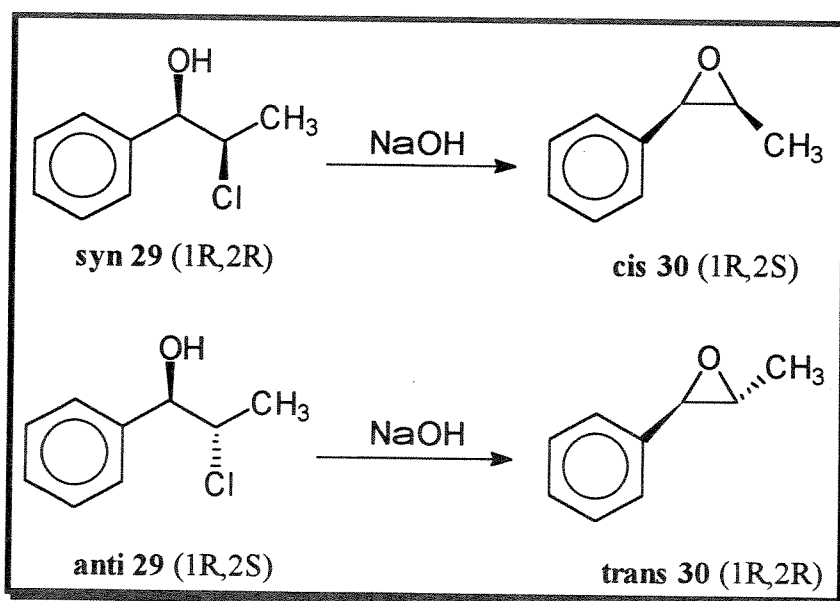
Em um balão de 25 ml colocamos 2,6 ml de uma solução 2 M de hidróxido de sódio. A esta solução adicionamos gota a gota 251 mg (1,4 mmol) de **syn** (±)-2-cloro-1-fenil-1-

propanol (**29**) durante 15 minutos à 22 °C com agitação. Lavamos o recipiente que continha a cloridrina com 2 ml de éter e adicionamos esta solução etérea à mistura reacional. Agitamos a mistura resultante vigorosamente por uma hora à temperatura ambiente. Saturamos a mistura com sulfato de sódio e extraímos com pentano (3 x 20 ml). Combinamos os extratos orgânicos e tratamos com cloreto de cálcio anidro. Removemos o solvente e obtivemos 122 mg (0,912 mmol, 62%), do ($\pm$)-cis-1-fenil-1,2-epóxidopropano (**30**), na forma de um óleo.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 1.08 (d, 3H, $J = 5,5$, CH_3), 3,30-3,36 (m, 1H, CHCH_3), 4,05 (d, 1H, $J = 4,0$, PhCH), 7,23-7,37 (m, 5 H, Ph).

IV(filme): 3063,2, 2967,0, 1496,2, 1450,9, 1258,5, 1205,4, 743,0, 700,4 cm^{-1} .

IV.8.4 - Reação de Epoxidação dos isômeros *syn* e *anti* do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (**29**)²¹:

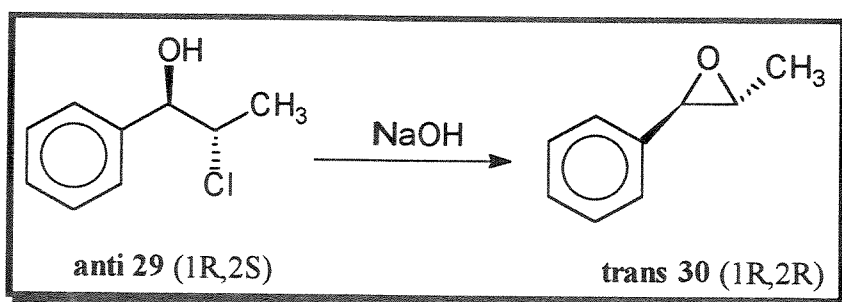


O procedimento é análogo ao descrito no item IV.8.3, porém partimos de 448 mg (2,62 mmol) da mistura de cloridrinas *syn* e *anti* de **29** e 4,75 ml de solução de hidróxido de sódio 2 M, obtendo-se 271 mg (2,02 mmol, 77%) de uma mistura 1:1 dos correspondentes epóxidos *cis* e *trans* do 1-fenil-1,2-epóxipropeno (**30**).

RMN-¹H(300 MHz, CDCl₃): **cis** δ 1,08 (d, 3H, J = 5,5, CH₃), 3,29-3,36 (m, 1H, CHCH₃), 4,05 (d, 3H, J = 4,3, PhCH); **trans** δ 1,44 (d, 3H, J = 5,2, CH₃), 3,00-3,05 (dq, 1H, J = 5,2 e J = 2,0, CHCH₃), 3,56 (d, 1H, J = 2,0, PhCH); 7,23-7,37 (m, 10H, Ph).

IV(filme): 3063,5, 2991,5, 1496,3, 1450,8, 1205,9, 743,3, 699,4 cm⁻¹.

IV.8.5 - Reação de Epoxidação do Isômero *anti* do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (**29**)²¹:



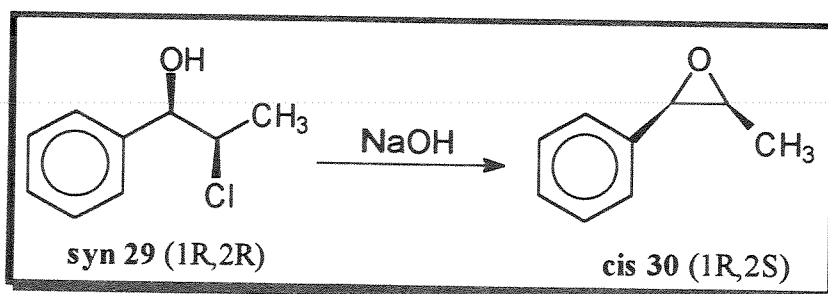
Determinamos a configuração absoluta dos centros quirais do isômero **anti** do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (**29**) separando-se os diastereoisômeros **syn** e **anti** por cromatografia de coluna e analisando as frações por cromatografia gasosa. Em seguida submetemos uma fração enriquecida com o diastereoisômero **anti** à reação de epoxidação conforme descrito a seguir.

Através de procedimento análogo ao descrito no item IV.8.3, porém partindo-se de 160 mg (0,950 mmol) de uma fração enriquecida com o isômero **anti** do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (**29**) e 1,54 ml de uma solução de NaOH 2M, obtivemos 102 mg (0,757 mmol, 80%) de 1-fenil-1,2-epóxiopropano (**30**) enriquecido com o isômero **trans**.

O epóxido enriquecido com o isômero **trans** de **30** apresentou $[\alpha]^{20}_D + 8,6^\circ$ (c 1,2 CHCl₃), e a rotação óptica descrita na literatura para o **trans** epóxido de configuração absoluta (1R,2R) é $[\alpha]^{20}_D + 48,5^\circ$ (c 0,9 CHCl₃)²².

RMN-¹H(80 MHz, CCl₄) δ 1,40 (d, 3H, J = 5,6, CH₃), 2,80 (m, 1H, CHCH₃), 3,40 (d, 1H, J = 2,0, PhCH), 7,10 (s, 5H, Ph).

IV.8.6 - Reação de Epoxidação do Isômero *syn* do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (29)²¹:



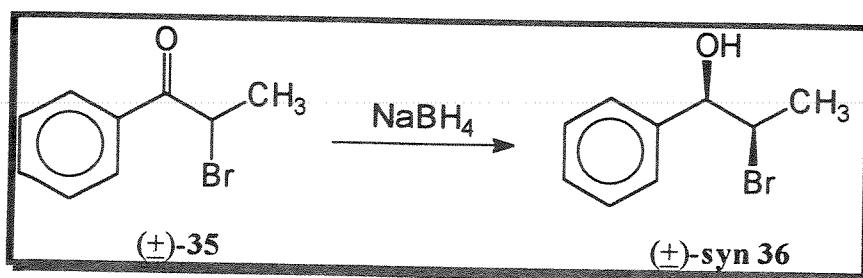
Determinamos a configuração absoluta dos centros quirais do isômero *syn* do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (29) separando-se a mistura de diastereoisômeros *syn* e *anti* por cromatografia de coluna e analisando as frações através de cromatografia gasosa. Em seguida submetemos uma fração enriquecida com o isômero *syn* do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (29) à reação de epoxidação, conforme descrito logo abaixo.

Através de procedimento análogo ao descrito no item IV.8.3, porém partindo-se de 33,9 mg (0,201 mmol) de uma fração enriquecida com o isômero *syn* do 2-cloro-1-fenil-1-propanol (29) e 0,30 ml de uma solução 2 M de NaOH, obtivemos 10,1 mg (0,0753 mmol, 37%) do 1-fenil-1,2-epóxiopropano (30) enriquecido com o isômero *cis*.

O epóxido *cis* de 30 apresentou $[\alpha]^{23}_D - 17,4^\circ$ (c 0,5 CHCl_3) e a rotação óptica descrita na literatura para o *cis* epóxido de configuração absoluta (1S,2R) é $[\alpha]^{20}_D + 47,3^\circ$ (c 1,43 CHCl_3)^{22,23}, portanto podemos assinalar a configuração (1R,2S) para o epóxido que obtivemos.

RMN-¹H(80 MHz, CCl_4) δ 1,00 (d, 3H, $J = 5,0$, CH_3), 3,20 (m, 1H, CHCH_3), 3,90 (d, 1H, $J = 4,0$, PhCH), 7,20 (s, 5H, Ph).

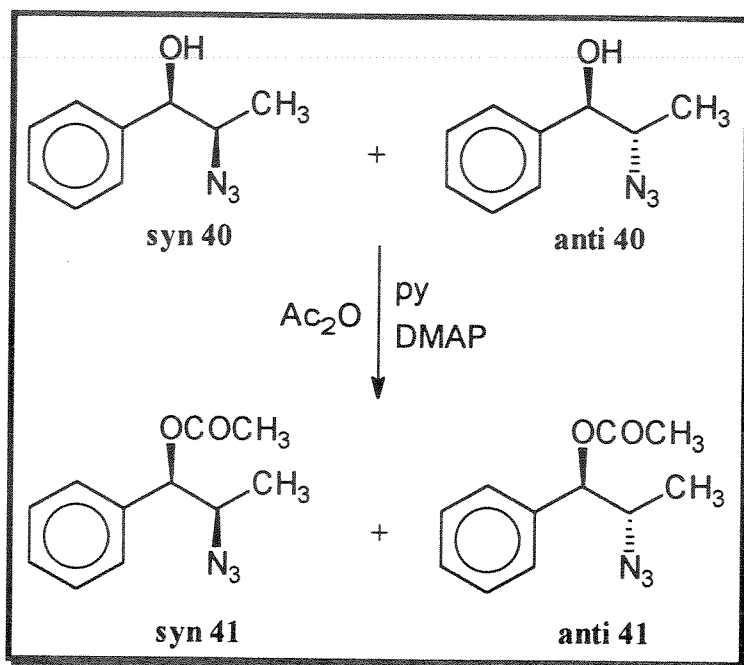
IV.8.7 - Redução de $(\pm)$ -2-bromopropiofenona (**35**) com NaBH_4 ²⁰:



Partimos de 1,25 g (5,88 mmol) de 2-bromopropiofenona (**35**) dissolvida em 2 ml de metanol e adicionamos aos poucos 429 mg (11,3 mmol) de boroidreto de sódio. Após o tratamento da reação obtivemos 755 mg (3,51 mmol, 60%) do isômero $(\pm)$ -syn do 2-bromo-1-fenil-1-propanol (**36**). A análise com reagente de deslocamento quiral foi feita com 45,7 mg (0,0383 mmol) do reagente de európio **1** e 30,3 mg (0,141 mmol) de $(\pm)$ -syn **36**.

RMN-¹H(300 MHz, CDCl_3): δ 1,56 (d, 3H, $J = 6,8$, CH_3), 2,58 (sl, 1H, OH), 4,29-4,39 (m, 1H, CHBr), 4,62 (d, 1H, $J = 7,7$, CHOH), 7,29-7,40 (m, 5H, Ph).

IV.8.8 - Reação de acetilação da mistura de isômeros *syn* (1*R*, 2*R*) e *anti* (1*R*, 2*S*) do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**)²⁰:

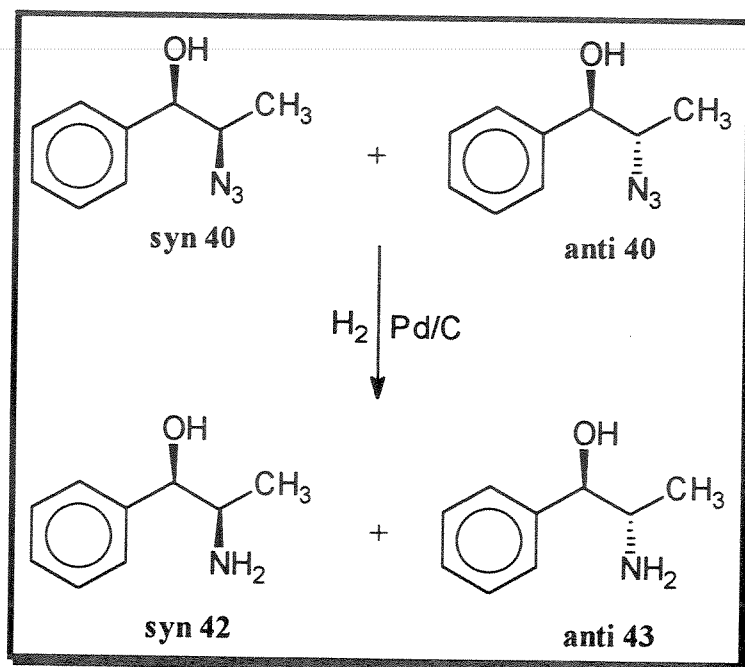


Misturamos em um balão de 25 ml, 284 mg (1,62 mmol) da mistura diastereoisomérica *syn* e *anti* de 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**), 198 mg (1,94 mmol) de anidrido acético, 196 mg (1,94 mmol) de trietilamina e 19,8 mg (0,162 mmol) de DMAP. Agitamos a mistura à temperatura ambiente e acompanhamos o progresso da reação por placa cromatográfica. Ao final da reação diluímos a mistura com 5 ml de diclorometano, lavamos com HCl 1% (2 x 2 ml); em seguida lavamos com solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (2 x 2 ml) e finalmente lavamos com salmoura (2 x 2 ml). O material foi tratado com sulfato de magnésio anidro, evaporamos o solvente e obtivemos 305 mg (1,39 mmol), 87%) dos isômeros *syn* e *anti* do O-acetil-2-azido-1-fenil-1-propanol (**41**).

RMN-¹H(300 MHz, CDCl₃): *syn* δ 1,08 (d, 3H, J = 6,7, CH₃), 2,13 (s, 3H, CH₃), 5,64 (d, 1H, J = 7,6, CHOAc); *anti*: 1,21 (d, 3H, J = 6,8, CH₃), 2,14 (s, 3H, CH₃), 5,77 (d, 1H, J = 4,8, CHOAc), 3,77-3,82 (m, 2H, CHN₃), 7,30-7,40 (m, 10 H, Ph).

IV(filme): 2935,8, 2108,5, 1744,6, 1230,9, 759,6, 701,2 cm⁻¹.

IV.8.9 - Redução da mistura de isômeros *syn* (1R, 2R) e *anti* (1R, 2S) do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**) com H_2 e Pd/C⁶:



Juntamos e purificamos os extratos brutos da 1ª e 7ª reações do item IV.7.10-método E. A mistura de isômeros *syn* e *anti* do 2-azido-1-fenil-1-propanol (**40**) apresentou $[\alpha]_D^{20}$ - 84,0° (c 1,9 CHCl₃). Dissolvemos 151 mg (0,851 mmol) desta mistura de isômeros em 20 ml de metanol seco e adicionamos quantidade catalítica de Pd/C 10%. Mantivemos a reação sob pressão de hidrogênio (40 psi) durante 24 horas. Filtramos a reação em uma coluna de celite e evaporamos o solvente. Obtivemos 125 mg (0,828 mmol, 97%) de um óleo amarelo claro correspondente aos isômeros (1R,2R)-(-)-norpseudoefedrina **42** (*syn*) e (1R,2S)-(-)-norefedrina **43** (*anti*). Esta mistura de amino álcoois apresentou $[\alpha]_D^{20}$ - 25,8° (c 4,7 CHCl₃).

Determinamos a configuração de um dos diastereoisômeros na mistura de amino álcoois usando-se como padrão uma amostra pura de (1S,2R)-(+)-norefedrina (**43**).

Inicialmente, observamos o comportamento da amostra padrão (1S,2R)-(+)-**43** (15,4 mg, 0,102 mmol), na presença de (+)-Eu(hfc)₃ (**1**) (22,0 mg, 0,0184 mmol).

Em seguida comparamos o comportamento da amostra padrão com o comportamento da mistura (1R,2R)-(-)-**42** e (1R,2S)-(-)-**43** na presença de (+)-Eu(hfc)₃ (**1**). Para 32,6 mg (0,215 mmol) da mistura de amino álcoois **42** e **43**, adicionamos 51,4 mg (0,431 mmol) de (+)-Eu(hfc)₃ (**1**).

A seguir, adicionamos 11,3 mg (0,0747) mmol) de (+)-norefedrina, dentro do tubo de RMN contendo a mistura de amino álcoois e (+)-Eu(hfc)₃ e observamos o aumento da absorção de um dos sinais do isômero (+) (padrão) no espectro da mistura de amino álcoois com o reagente de deslocamento quiral. Através disto inferimos a configuração do outro diastereoisômero presente na mistura.

RMN-¹H(300 MHz, CDCl₃): **syn** δ 3,09 (m, 1H, CHNH₂), 4,32 (d, 1H, J = 7,5, CHOH); **anti** δ 4,70 (d, 1H, J = 3,7, CHOH), 3,22 (m, 1H, CHNH₂); 0,925-0,961 (d, 6H, CH₃), 3,83-3,86 (sl, 6H, OH, NH₂), 7,23-7,30 (m, 10H, Ph).

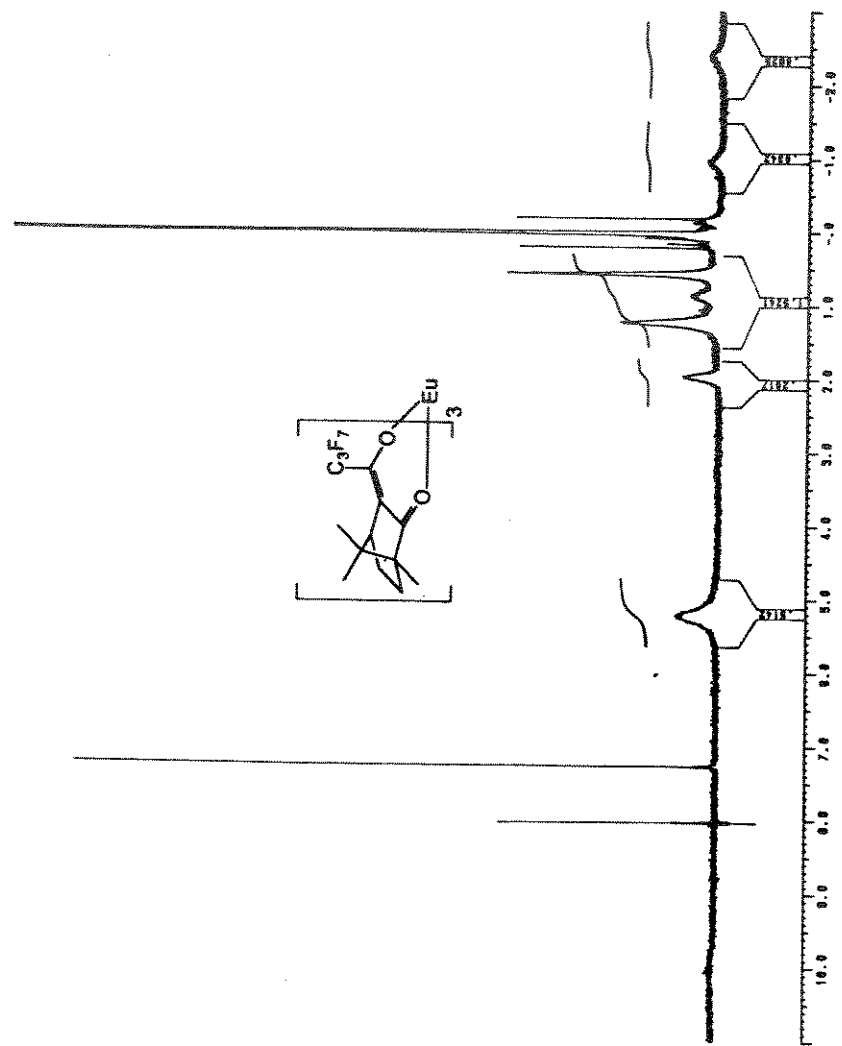
IV(filme): 3363, 3331, 3256, 3061, 2975, 1630, 1586, 1554 cm⁻¹.

IV.9 - Referências Bibliográficas:

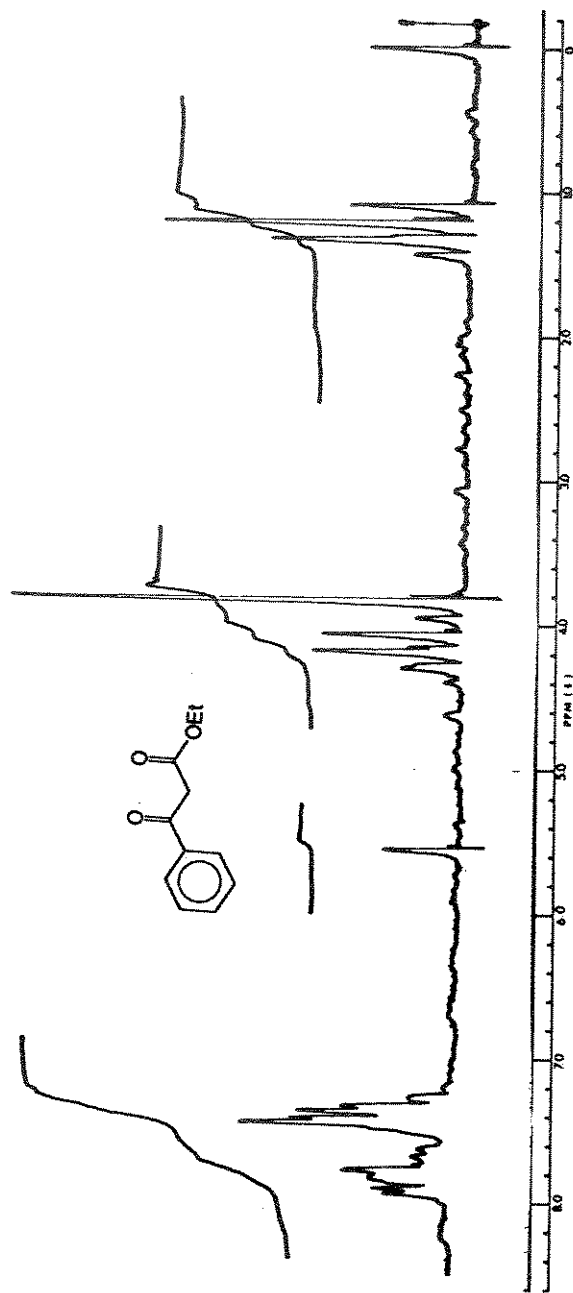
- ¹Carvalho, M. *Redução Enantiosseletiva da Propiofenona, Acetofenona e Derivados α -Halogenados Utilizando-se Fermento de Pão*, Tese de Mestrado, 1992, IQ-UNICAMP.
- ²Seebach, D.; Sutter, M. A.; Weber, R. H.; Zuger, M. F. *Org. Synth.* **1984**, 63, 1.
- ³MacLeod, R.; Prosser, L.; Fikentscher, K.; Lanyi, J.; Mosher, H. S. *Biochemistry* **1964**, 3, 833.
- ⁴Bucciarelli, M.; Forni, A.; Moretti, I. Torre, G. *Synthesis* **1983**, 897.
- ⁵Naoshima, Y.; Hasegawa, H.; Nishiyama, T.; Nakamura, A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1989**, 62, 608.
- ⁶Sorrilha, A. E. P. M.; *Redução de Fenilcetonas por Fermento de Pão Imobilizado*, Tese de Mestrado, 1992, IQ-UNICAMP.
- ⁷Parizotto, O.; *Crisotilas Naturais Brasileiras. Ativação da Superfície e Aplicação na Imobilização de Biocatalisadores*, Tese de Mestrado, 1989, IQ-UNICAMP.
- ⁸Straley, J. M.; Adams, A. C. *Org. Synth. Coll.* **1963**, 4, 415.
- ⁹Hartung, W. H.; Crossley, F. *Org. Synth. Coll.* **1943**, 2, 363.
- ¹⁰Hartman, W. W.; Roll, L. J. *Org. Synth. Coll.* **1955**, 3, 20.
- ¹¹Ridley, D. D.; Deol, B. S.; Simpson, G. W. *Aust. J. Chem.* **1976**, 29, 2459.
- ¹²Ackrell, J.; Muchowski, J. M. *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 3374.
- ¹³Pasto, D. J.; Garves, K. *J. Org. Chem.* **1967**, 32, 778.
- ¹⁴Kosower, E. M.; Cole, W. J.; Wu, G. S.; Cardy, D. E.; Meisters, G. *J. Org. Chem.* **1963**, 28, 630.
- ¹⁵Cohen, S. G.; Weinstein, S. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86, 725.
- ¹⁶Ridley, D. D.; Stralow, M. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1975**, 400.
- ¹⁷Meyers, A. I.; Slade, J. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 2785.
- ¹⁸Ohta, H.; Konishi, J.; Tsuchihashi, G. *Chem. Lett.* **1985**, 1111.

-
- ¹⁹Ohta, H.; Ozaki, K.; Konishi, J.; Tsuchihashi, G. *Agric. Biol. Chem.* **1986**, *50*, 1261.
- ²⁰Murta, M. M. *Síntese Total e Estereosseletiva da (±)-Serricornina, Feromônio Sexual do Besouro Lasioderma Serricorne F.*, Tese de Mestrado, IQ-UNICAMP, **1988**.
- ²¹Corey, E. J.; Shibata, S.; Bakshi, R. K. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2863.
- ²²Audier, H. E.; Dupin, J. F.; Julien, J. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1966**, *9*, 2811.
- ²³Curci, R.; Fiorentino, M.; Serio, M. R. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 155.

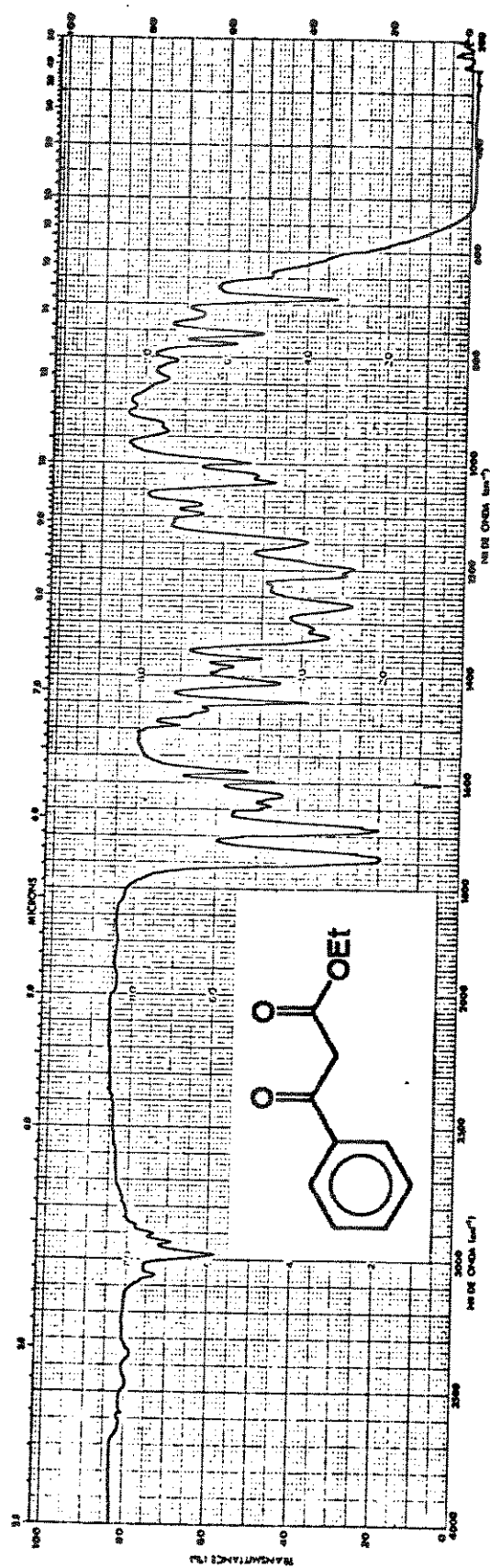
APÊNDICE - ESPECTROS



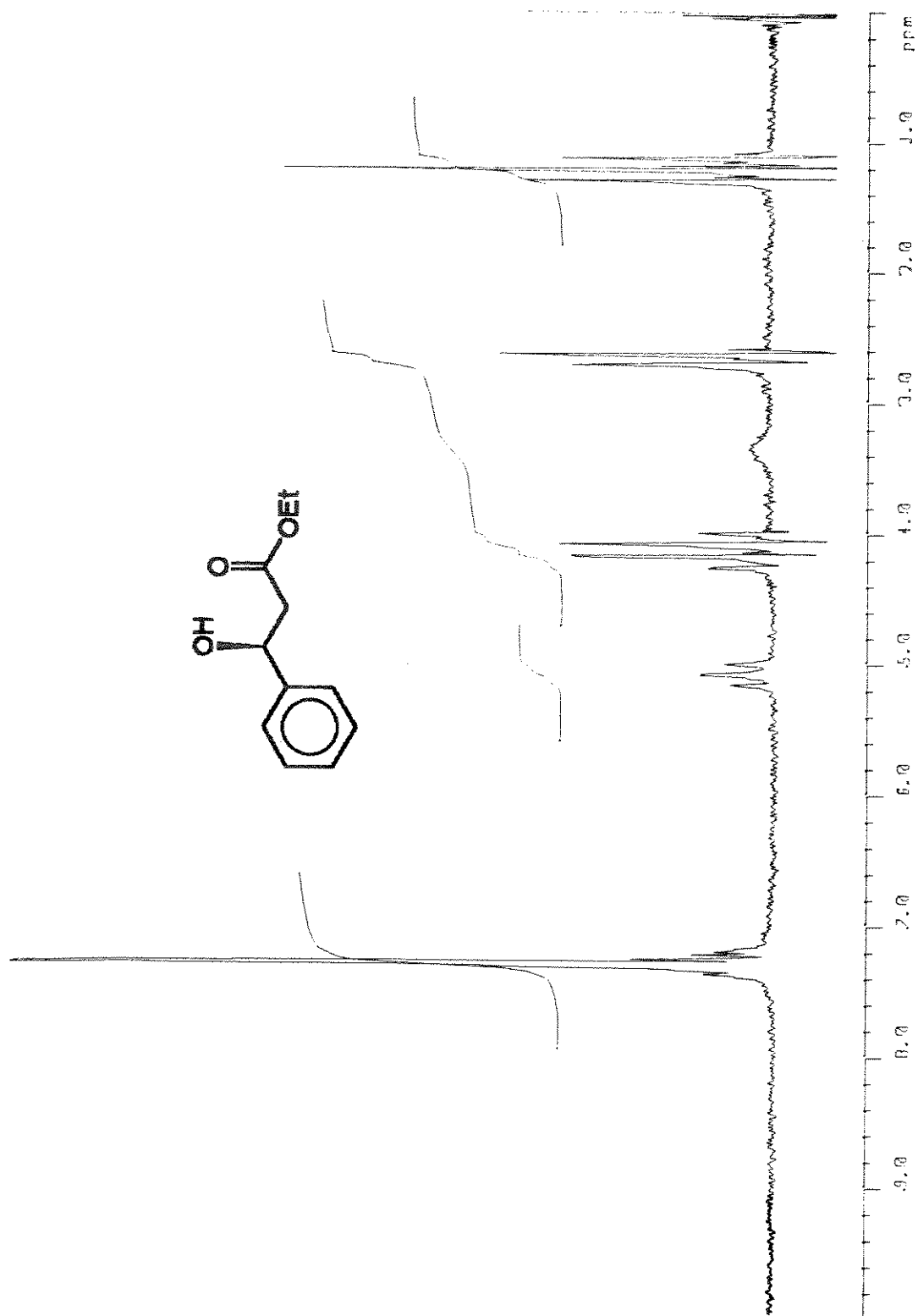
ESPECTRO RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) - (+)-Eu(hfc)₃ (1)

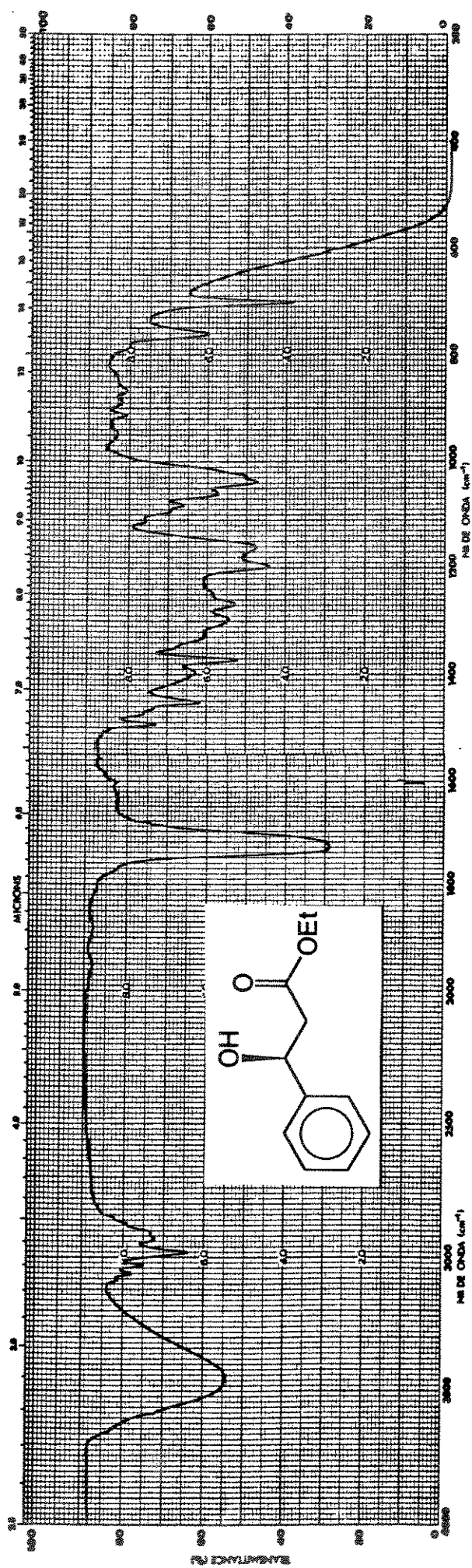


ESPECTRO RMN- ^1H (60 MHz, CCl_4) - Benzoilacetato de Etila (2)

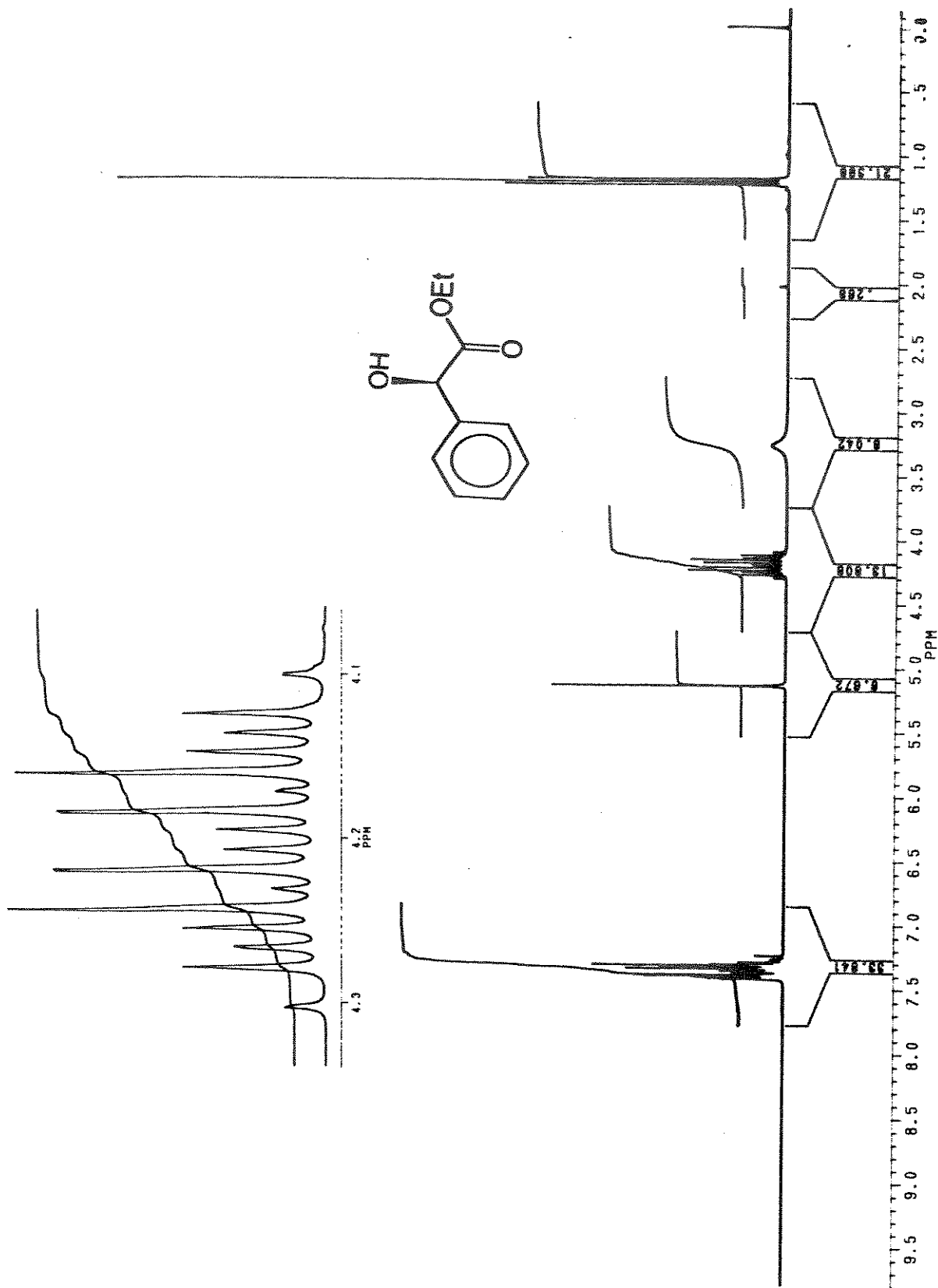


ESPECTRO IV (filme) - Benzoilacetato de Etila (2)

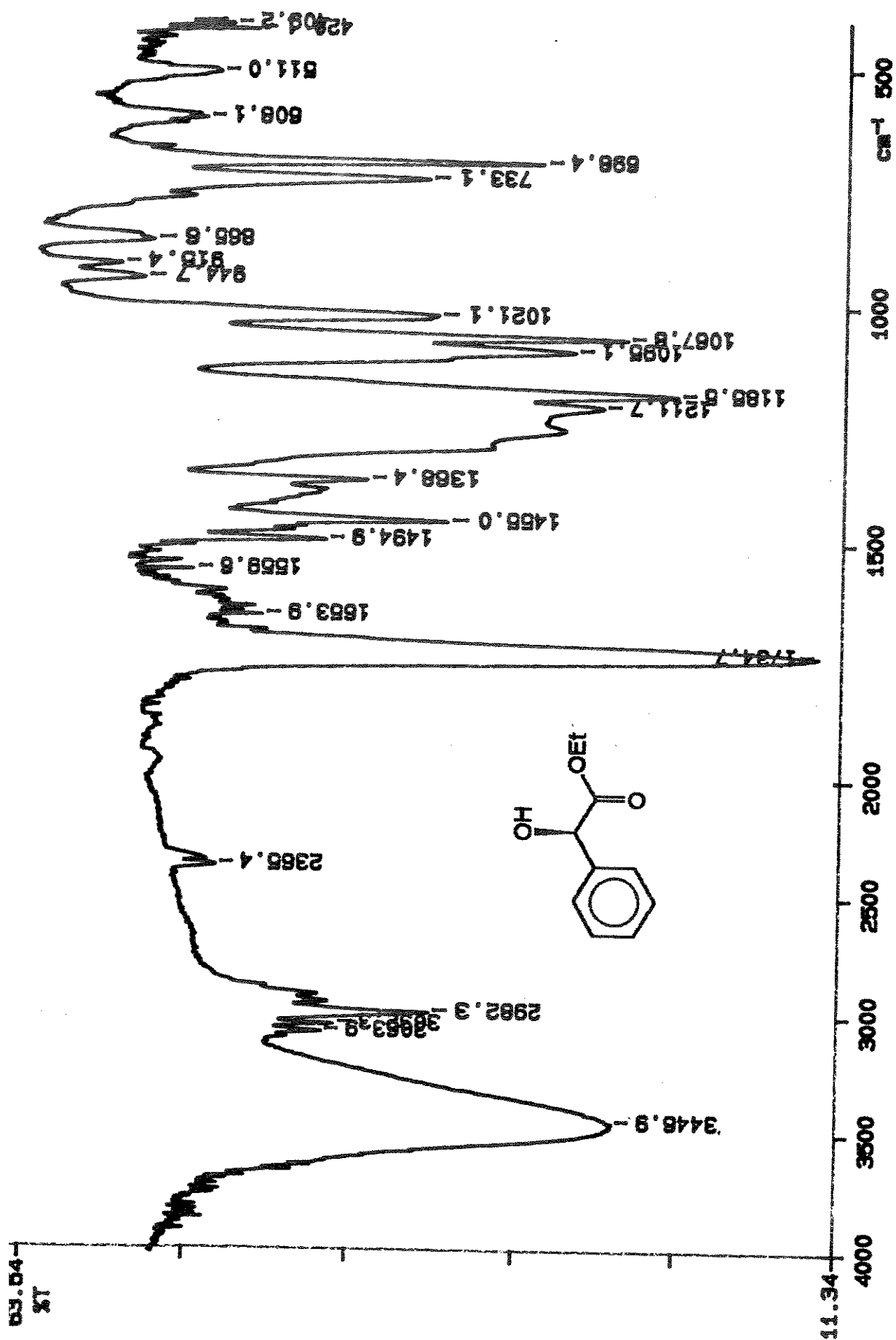




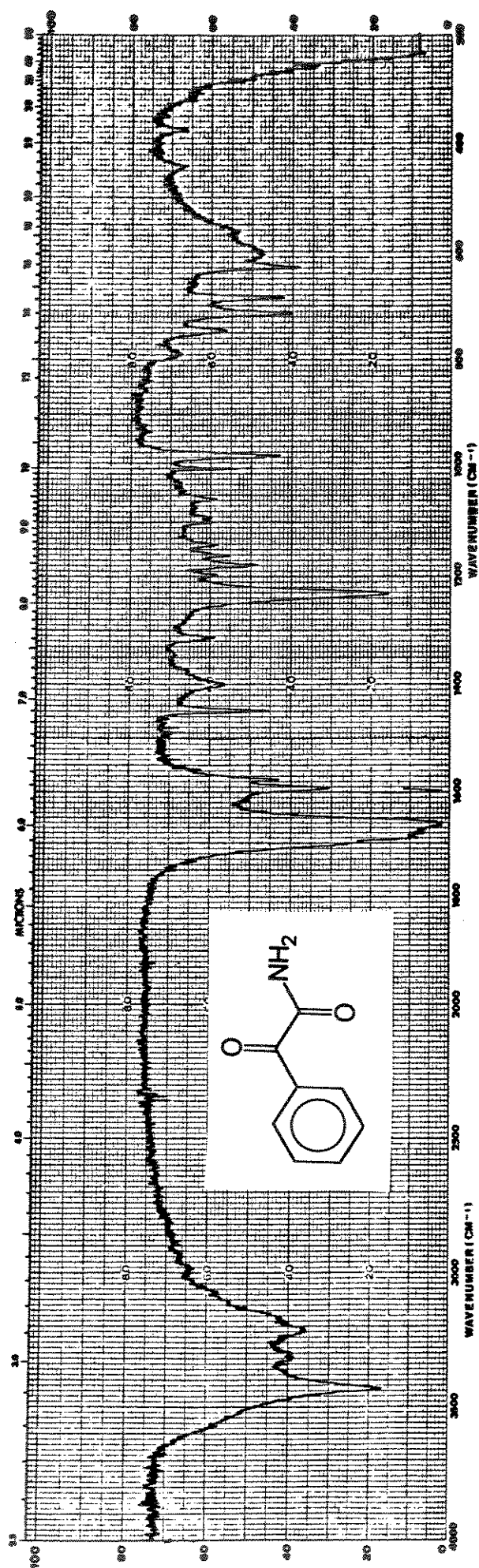
ESPECTRO IV (filme) - (S)-(-)-3-Hidróxi-3-fenilpropionato de Etila (3)



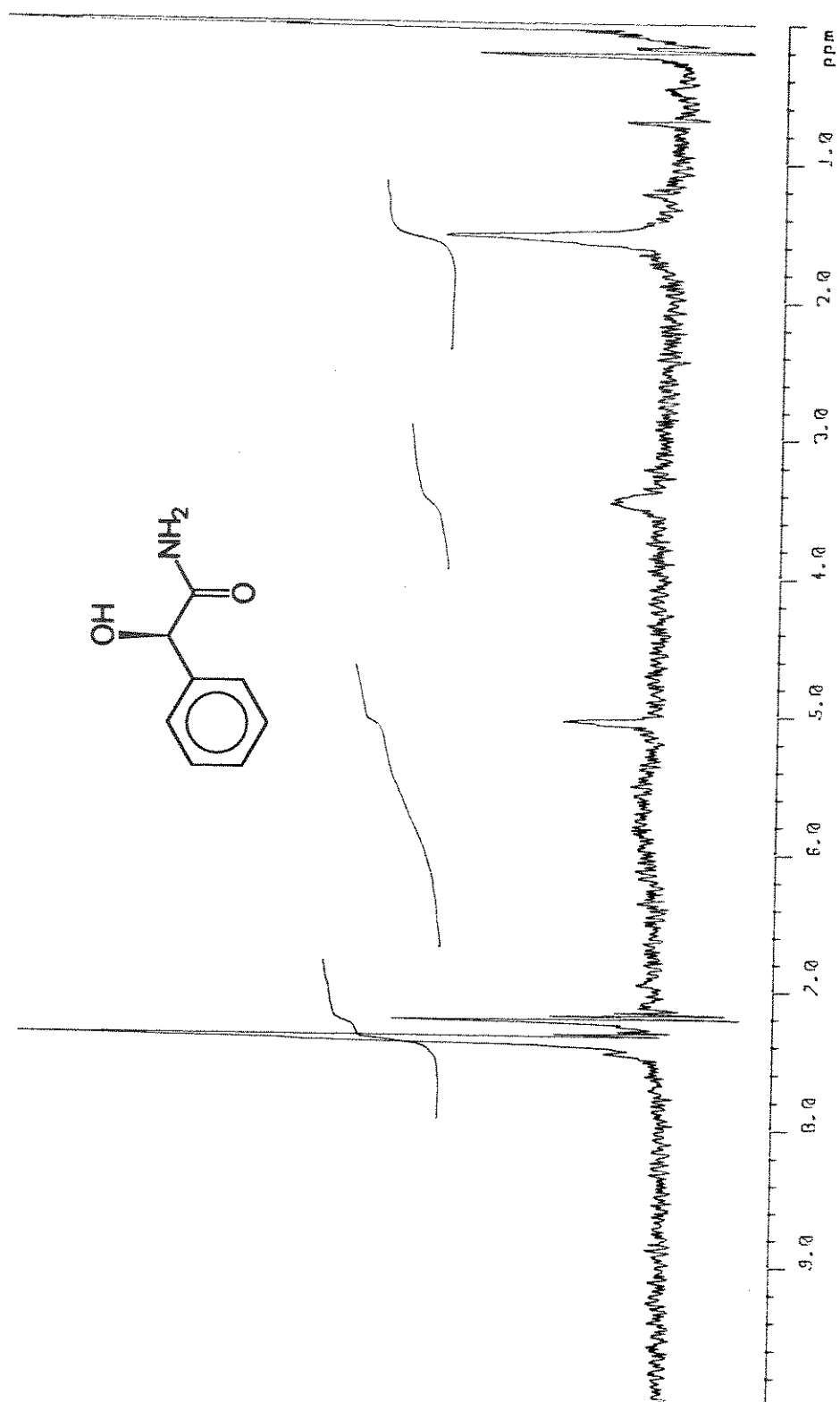
ESPECTRO RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) - (R)-(-)-Mandelato de Etila (11)



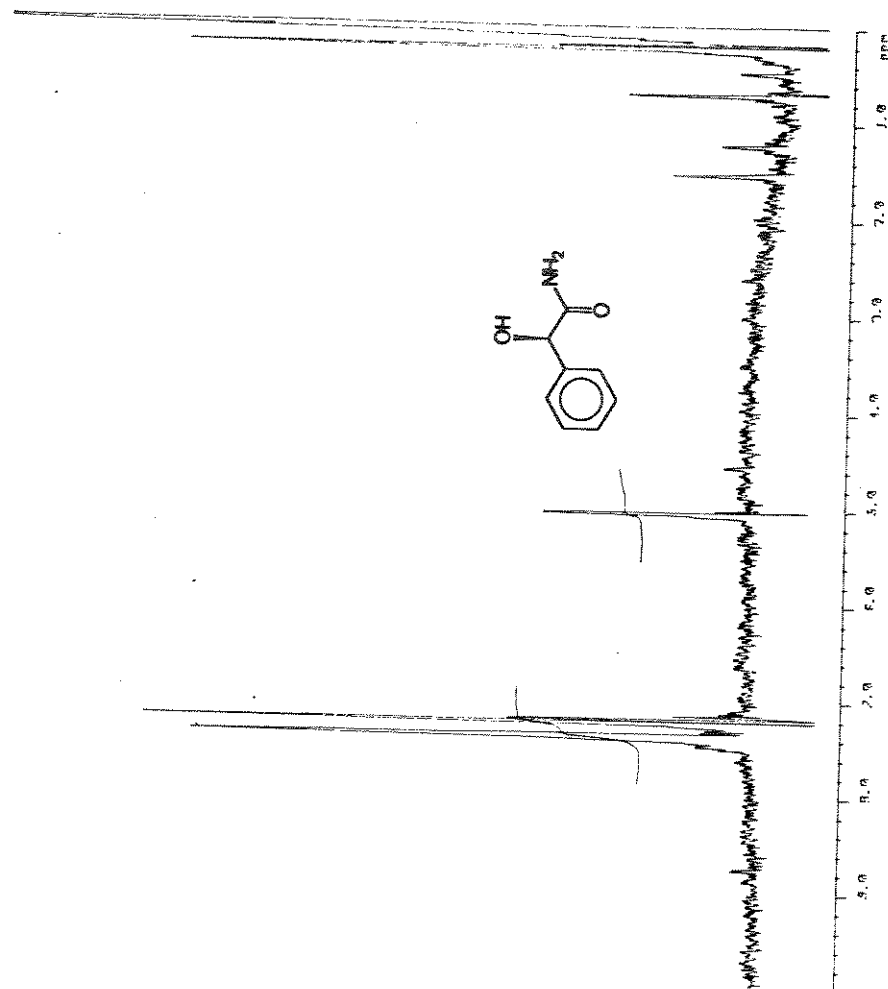
ESPECTRO IV (filme, FTIR) - (R)-(-)-Mandelato de Etila (11)



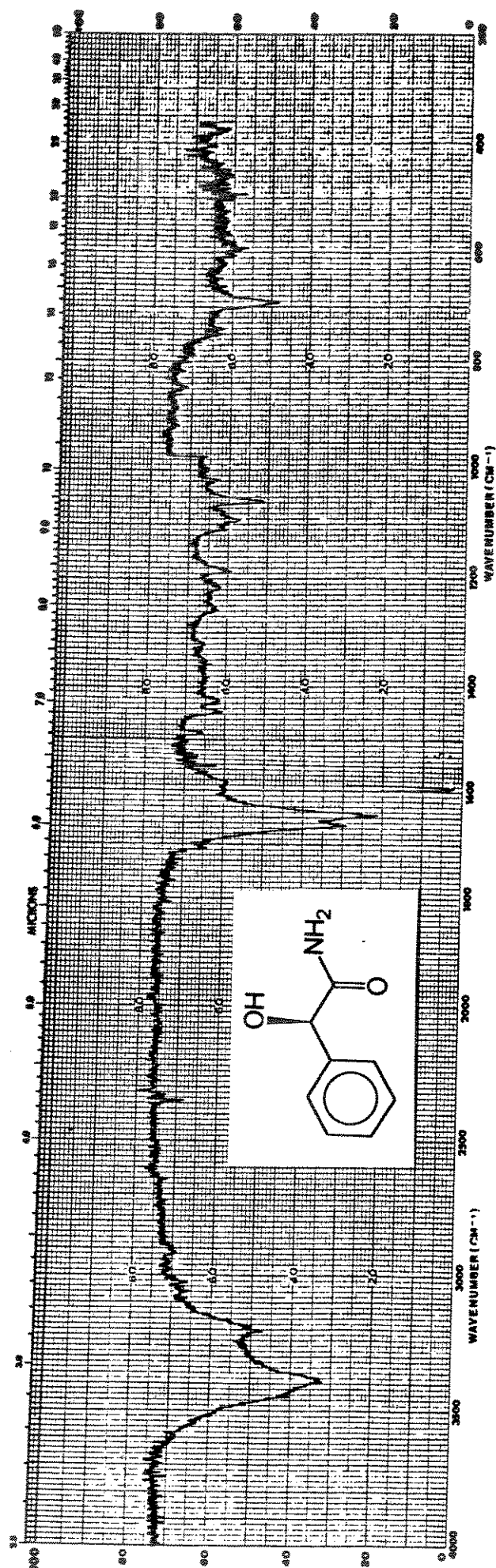
ESPECTRO IV (KBr) - Benzilformamida (13)



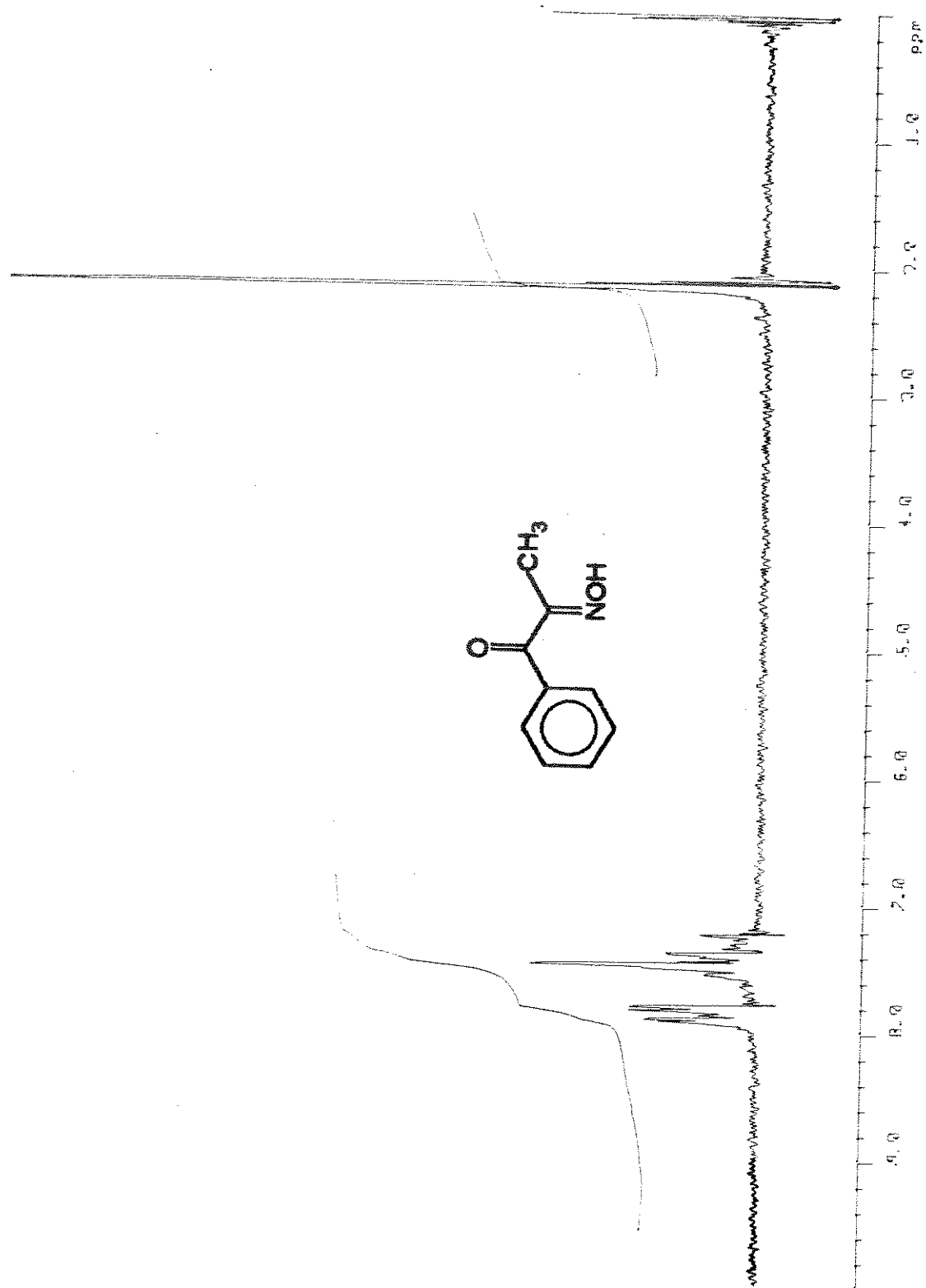
ESPECTRO RMN- ^1H (80 MHz, CDCl_3) - (R)-(-)-Mandelamida (14)



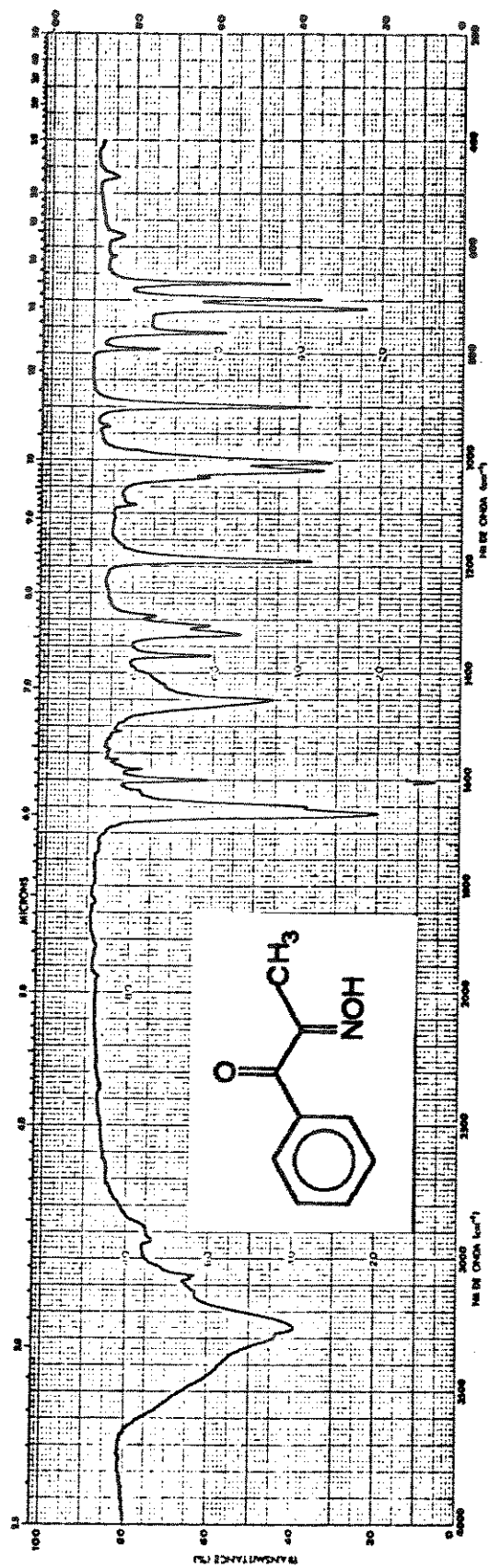
ESPECTRO RMN- ^1H (80 MHz, CDCl_3) - (R)-(-)-Mandelamida (14) na presença de D_2O



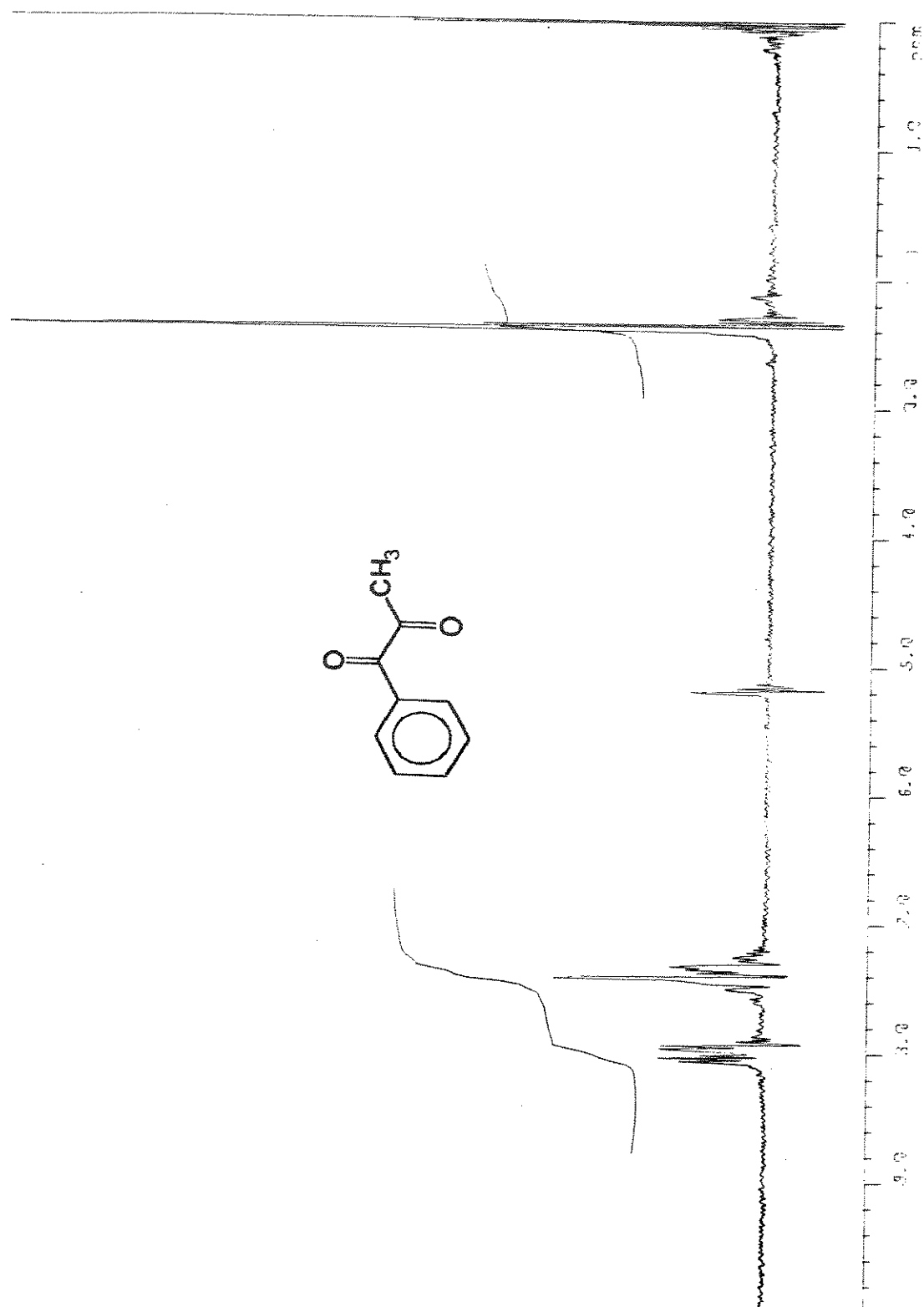
ESPECTRO IV (KBr) - (R)-(-)-Mandelamida (14)



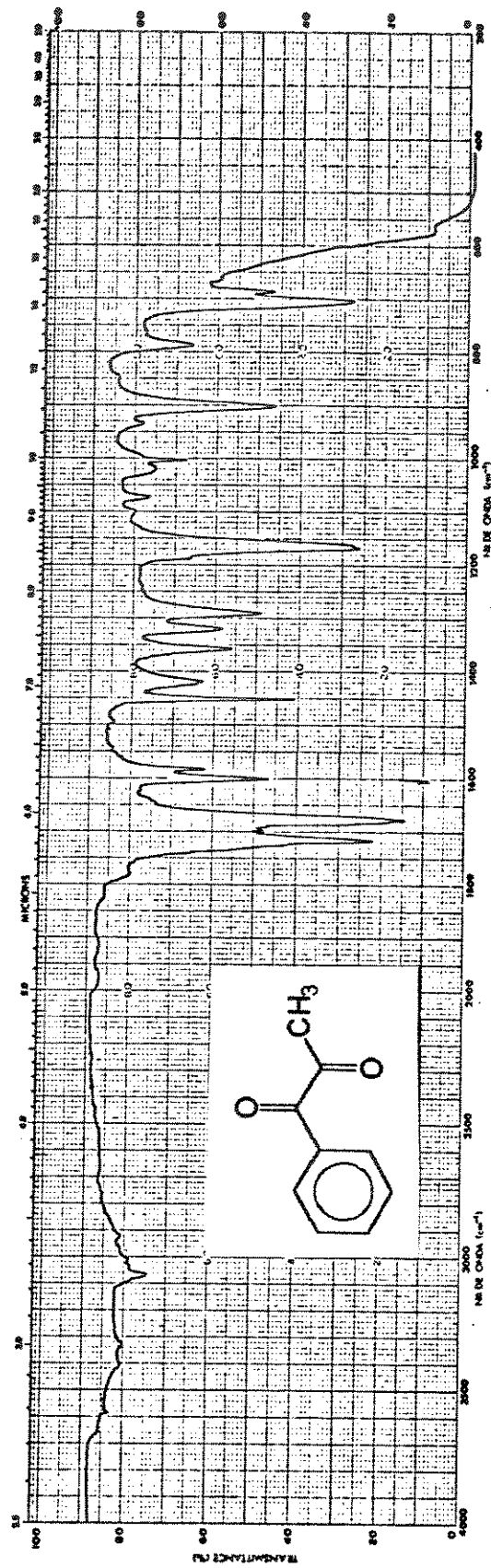
ESPECTRO RMN- ^1H (80 MHz, CDCl_3) - Isonitrosopropiufenona (44)



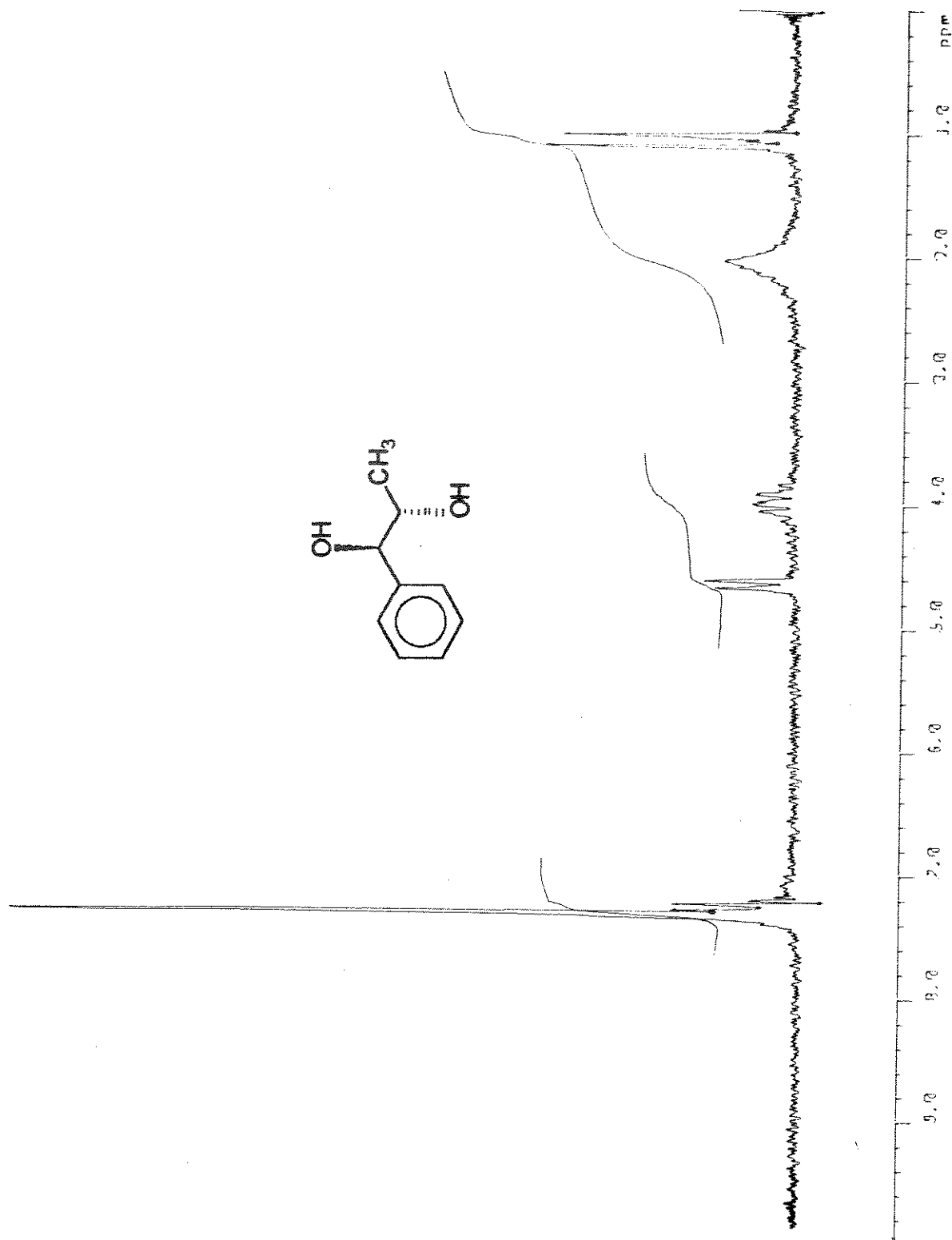
ESPECTRO IV (KBr) - Isonitrosopropiopenona (44)



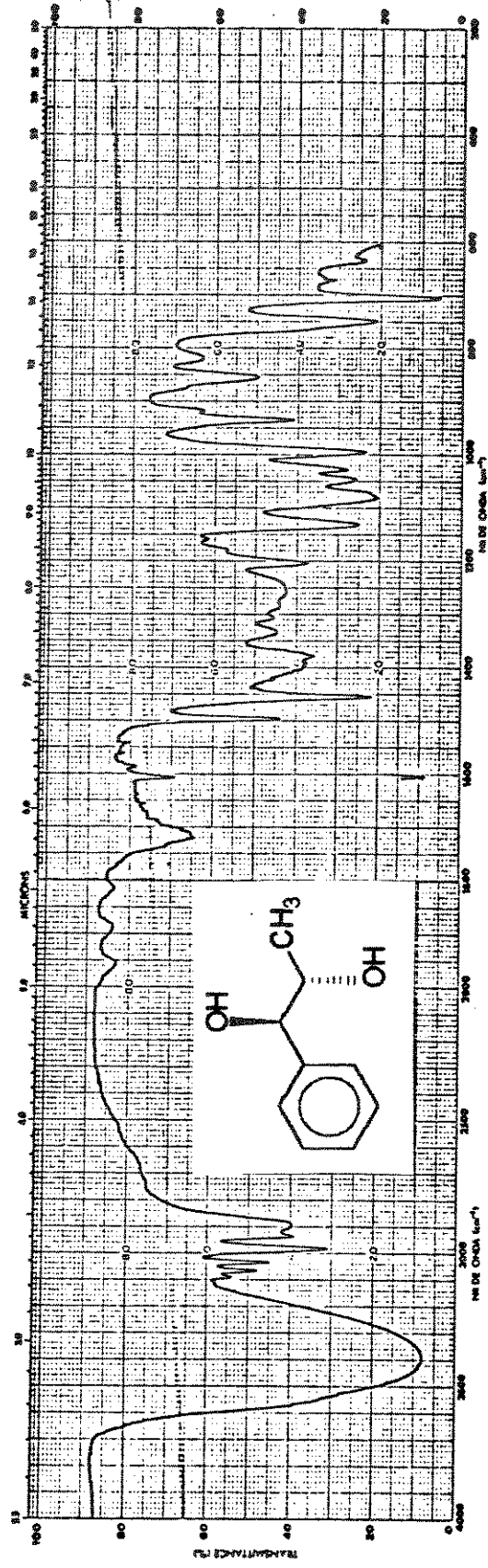
ESPECTRO RMN-¹H (80 MHz, CDCl₃) - 1-Fenil-1,2-propanodiona (20)



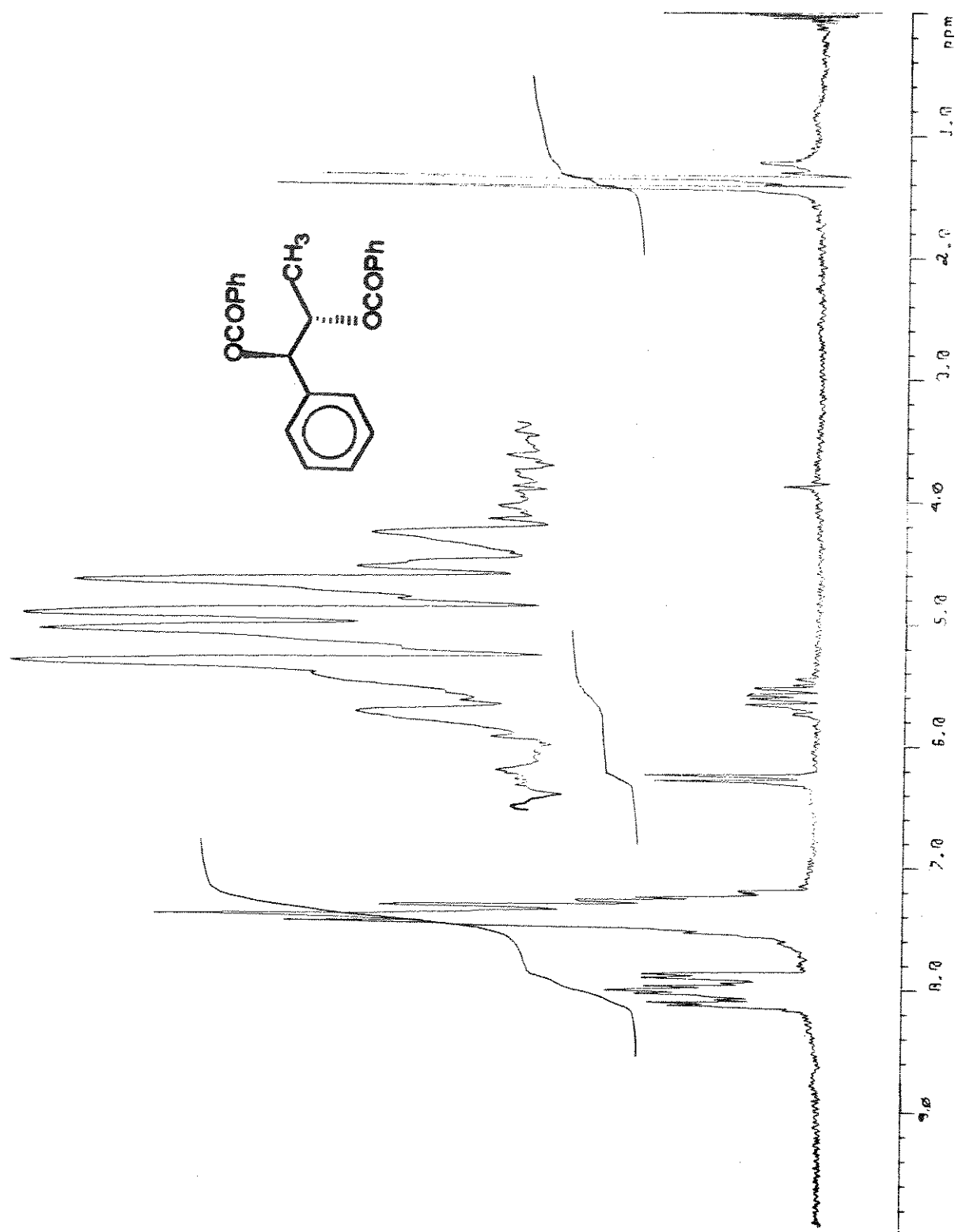
ESPECTRO IV (filme) - 1-Fenil-1,2-propanodiona (20)



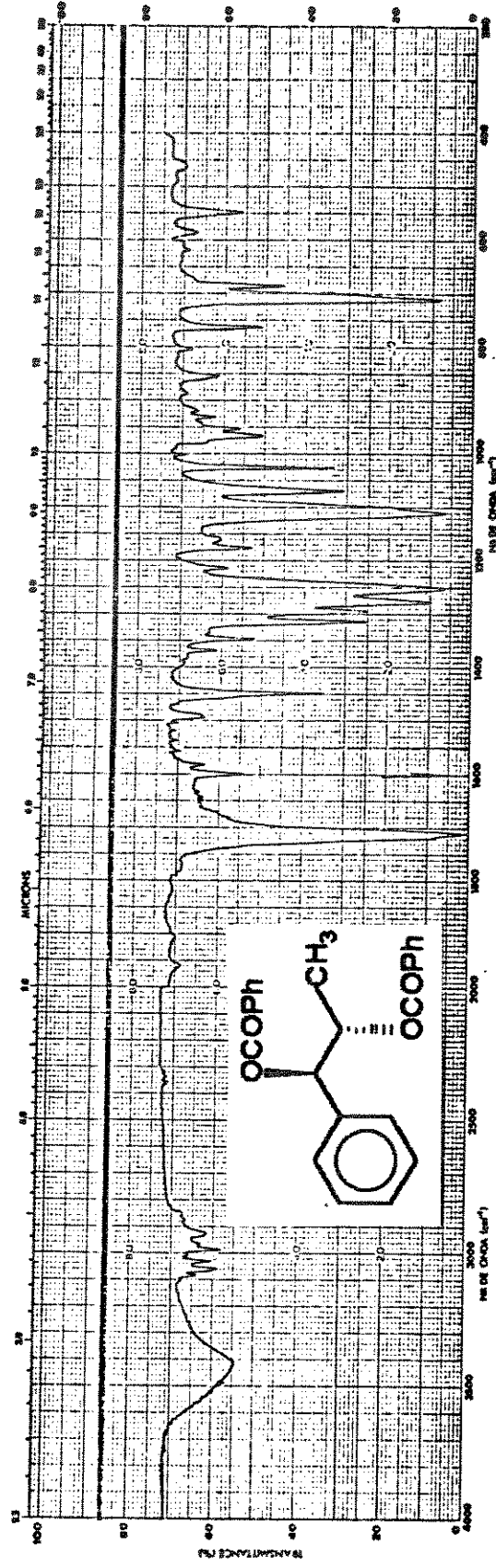
ESPECTRO RMN-¹H (80 MHz, CDCl₃) - **anti-(1R,2S)-(-)-1-phenyl-1,2-propanediol (21)**



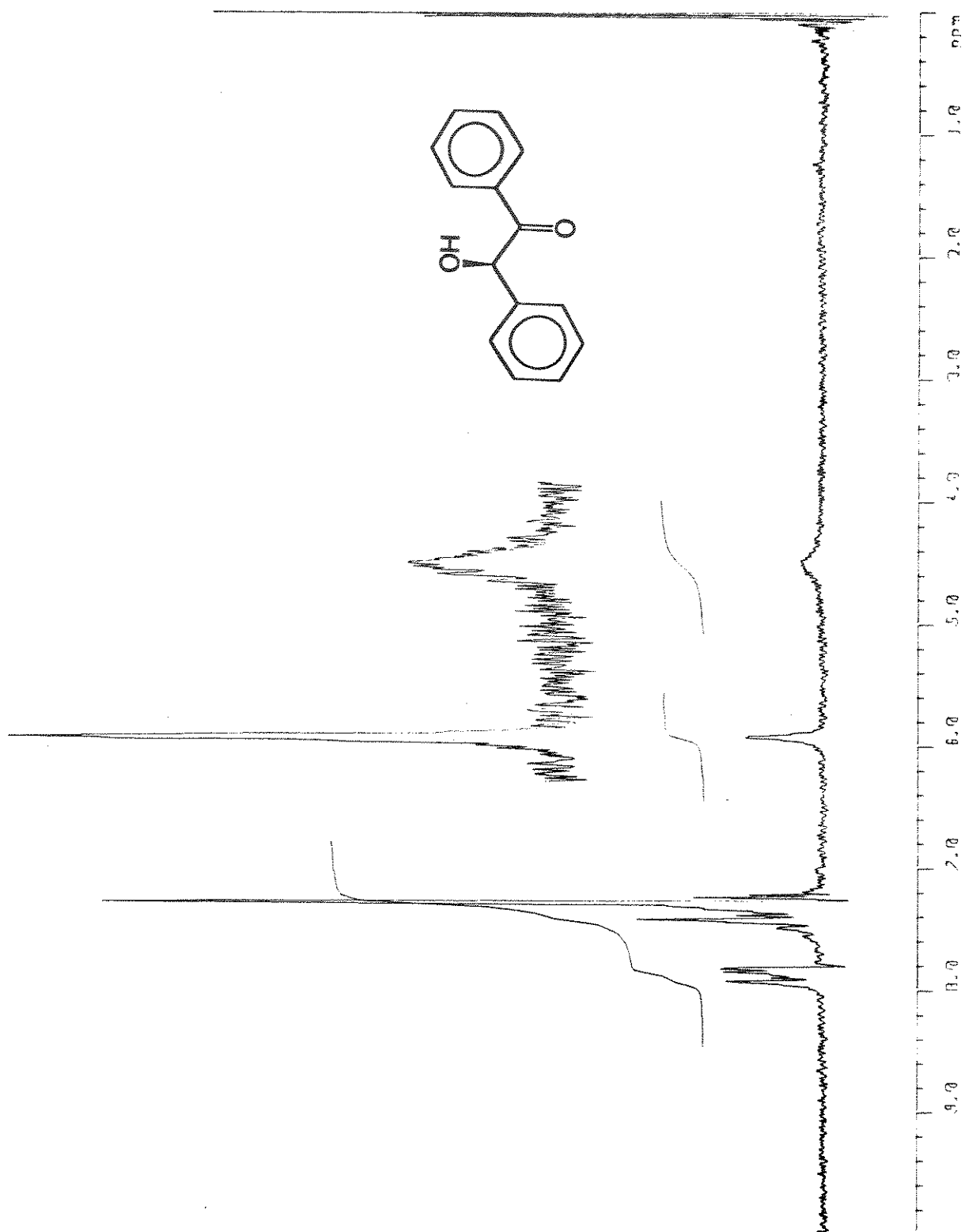
ESPECTRO IV (filme) - **anti-(1R,2S)-(-)-1-Fenil-1,2-propanodiol (21)**



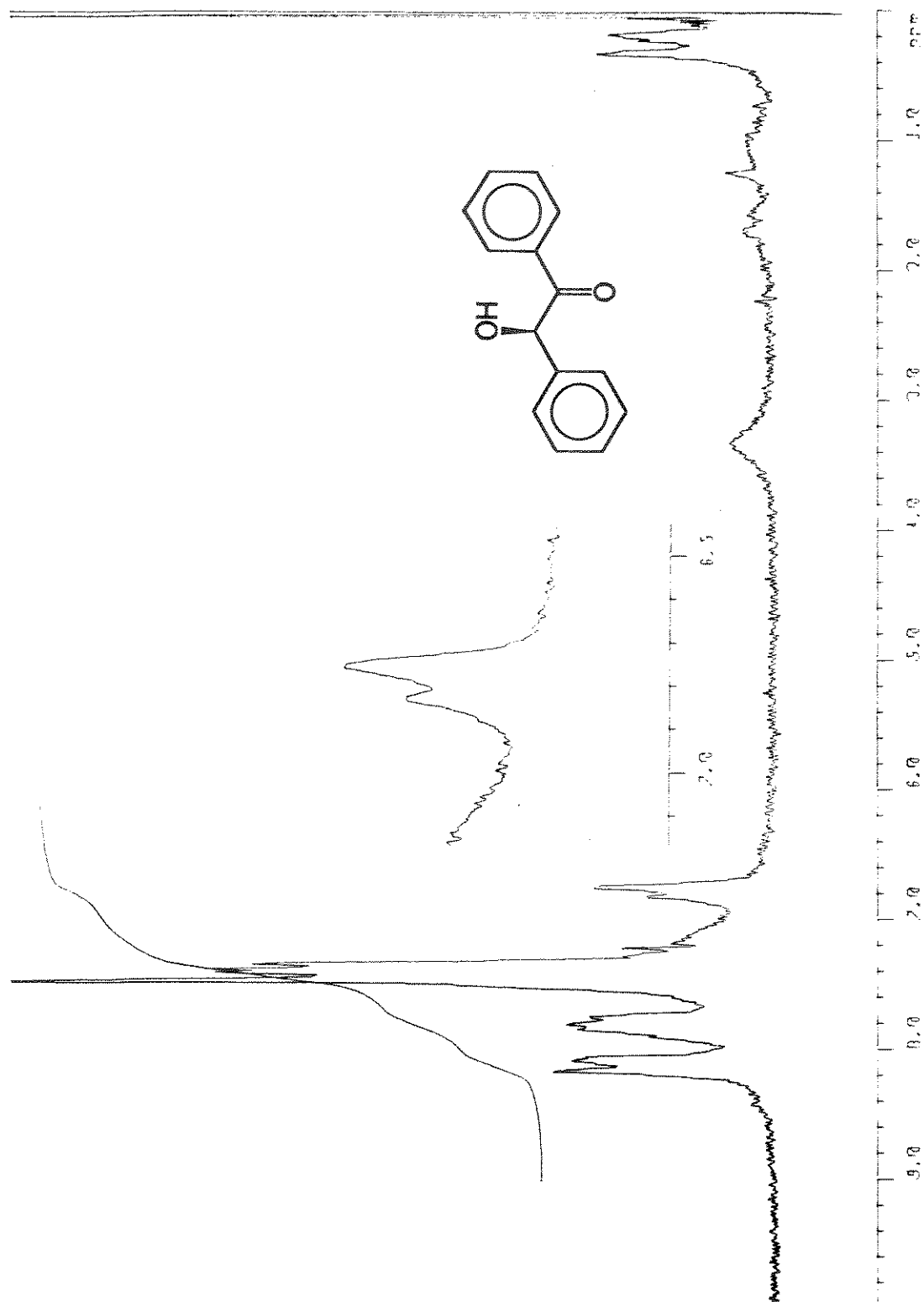
ESPECTRO RMN-¹H (80 MHz, CDCl₃) - Dibenzoato do **anti-(1R,2S)-(-)-1-Fenil-1,2-propanodiol (22)**



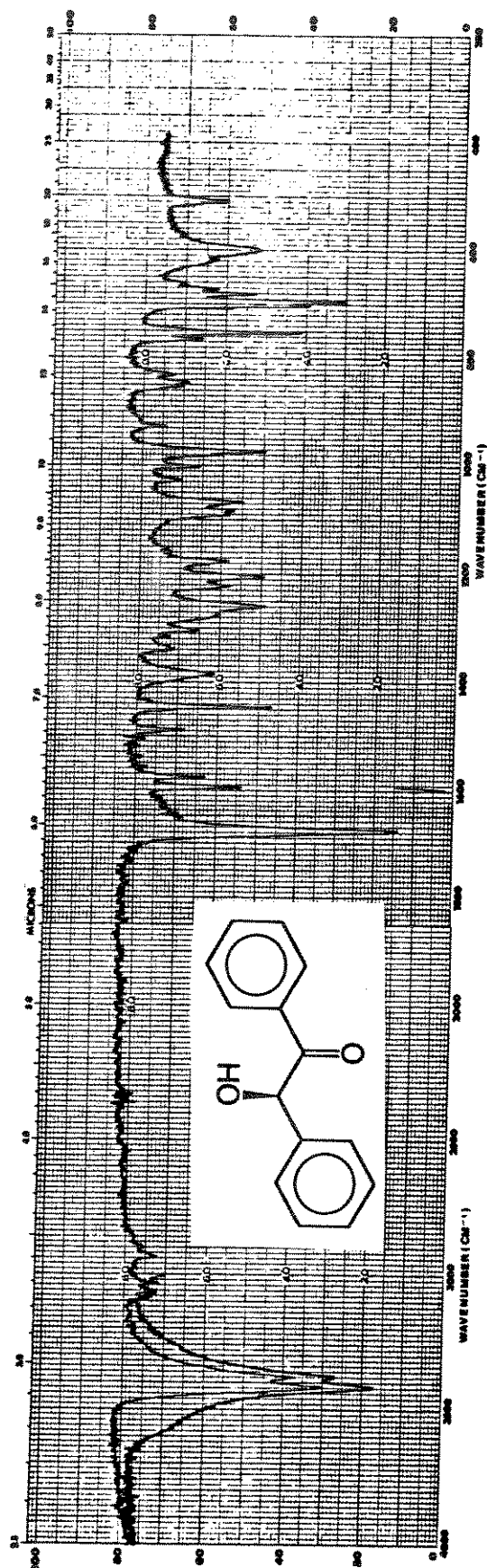
ESPECTRO IV (KBr) - Dibenzoato do *anti*-(1R,2S)-(-)-1-Fenil-1,2-propanodiol (22)



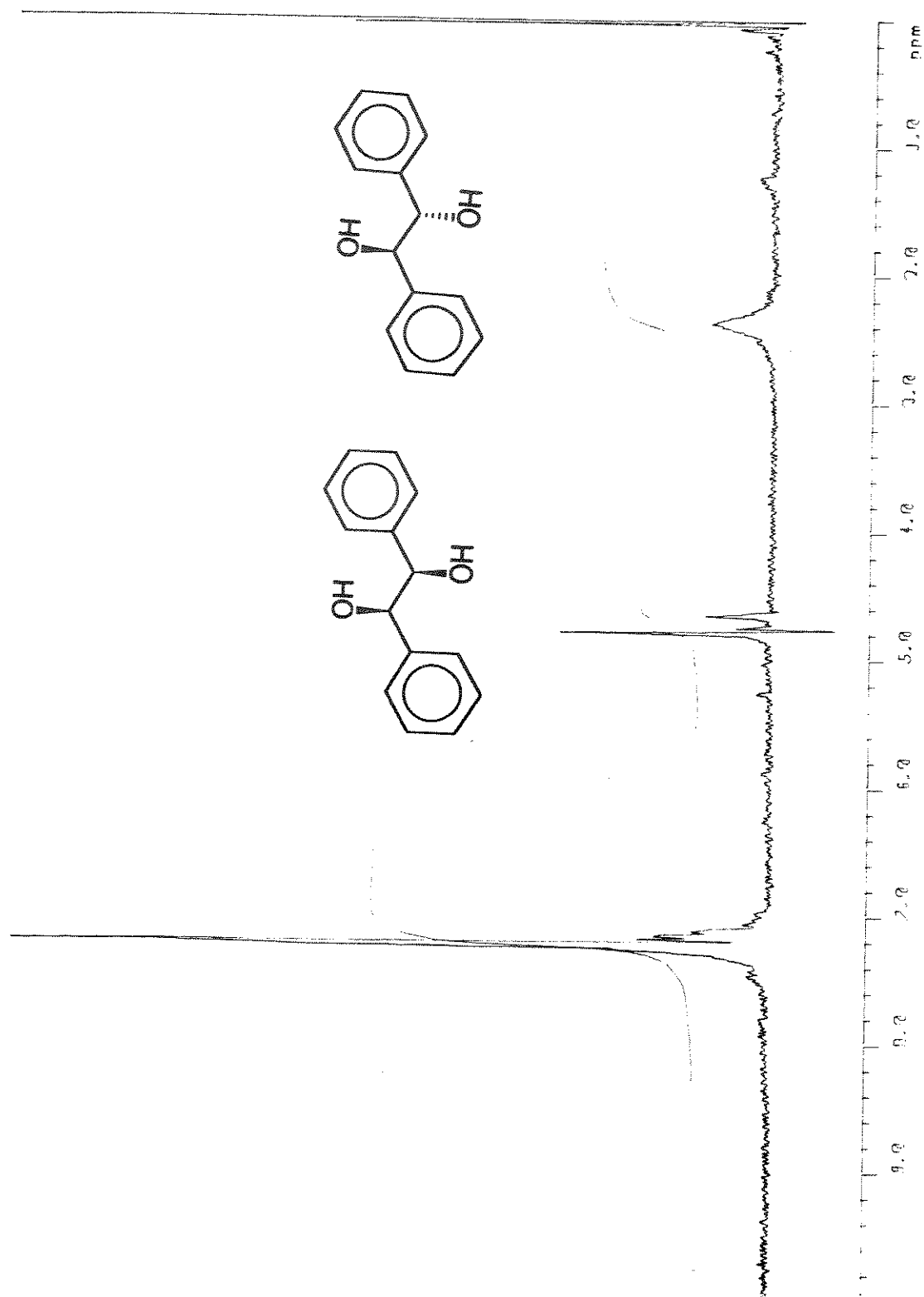
ESPECTRO RMN-¹H (80 MHz, CDCl₃) - (R)-(-)-Benzoína (26)



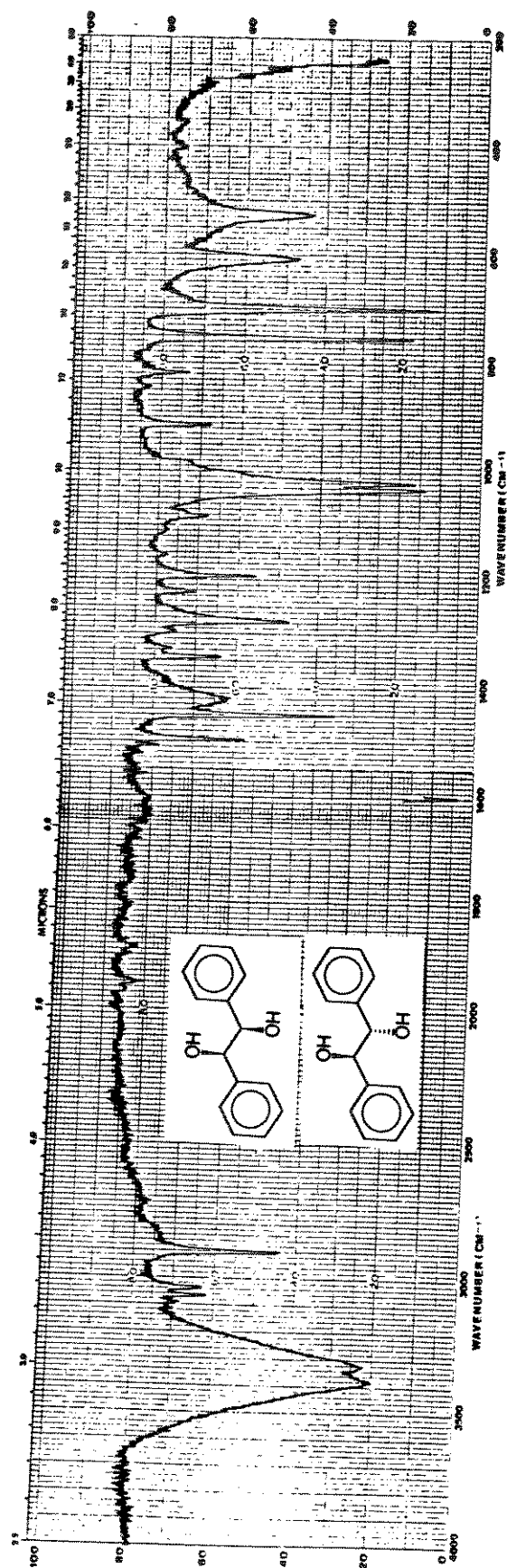
ESPECTRO RMN-¹H (80 MHz, CDCl₃) - (R)-(-)-Benzoína (26) na presença de (+)-Eu(hfc)₃ (1)



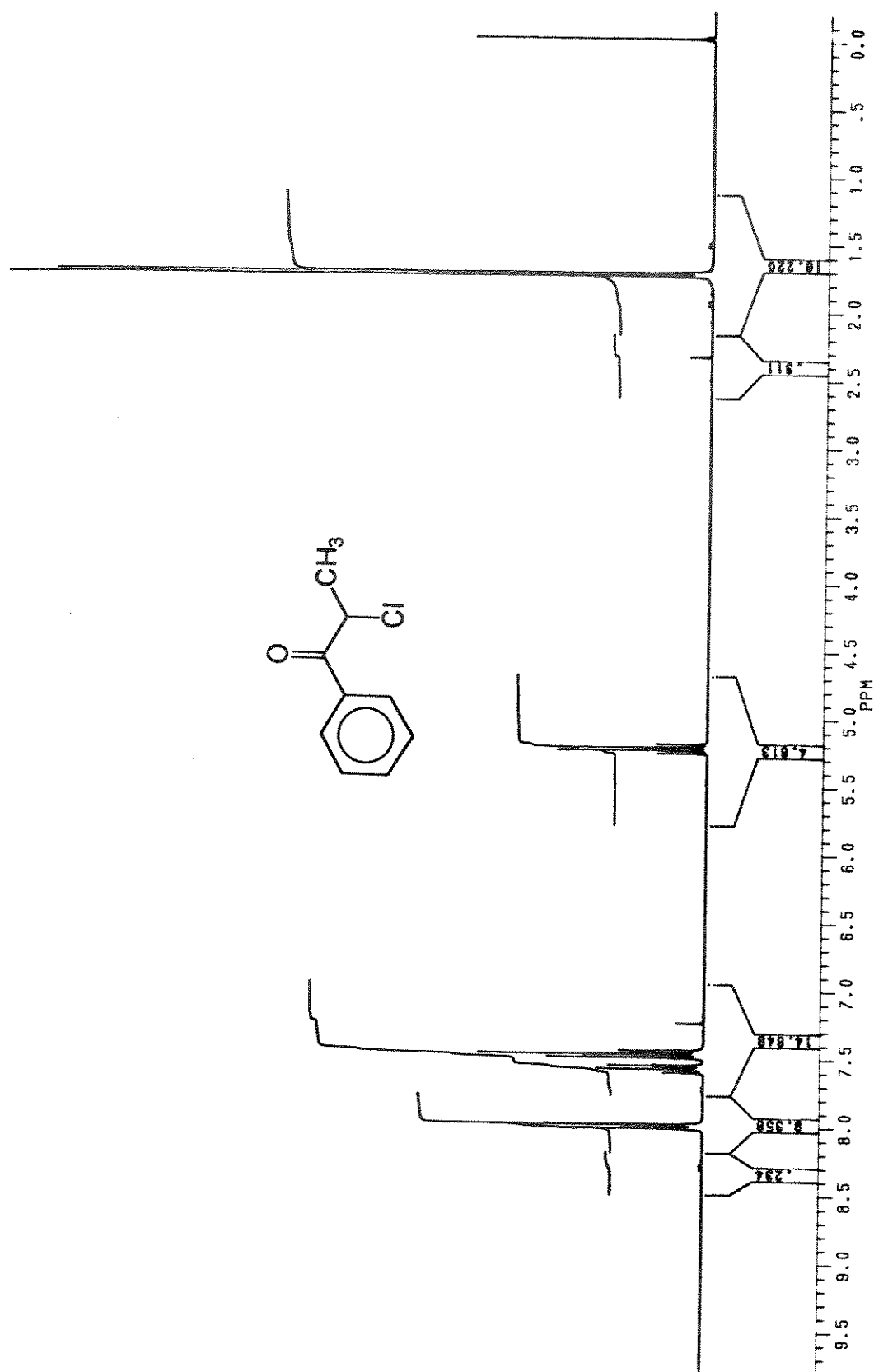
ESPECTRO IV (KBr) - (R)-(-)-Benzoína (26)



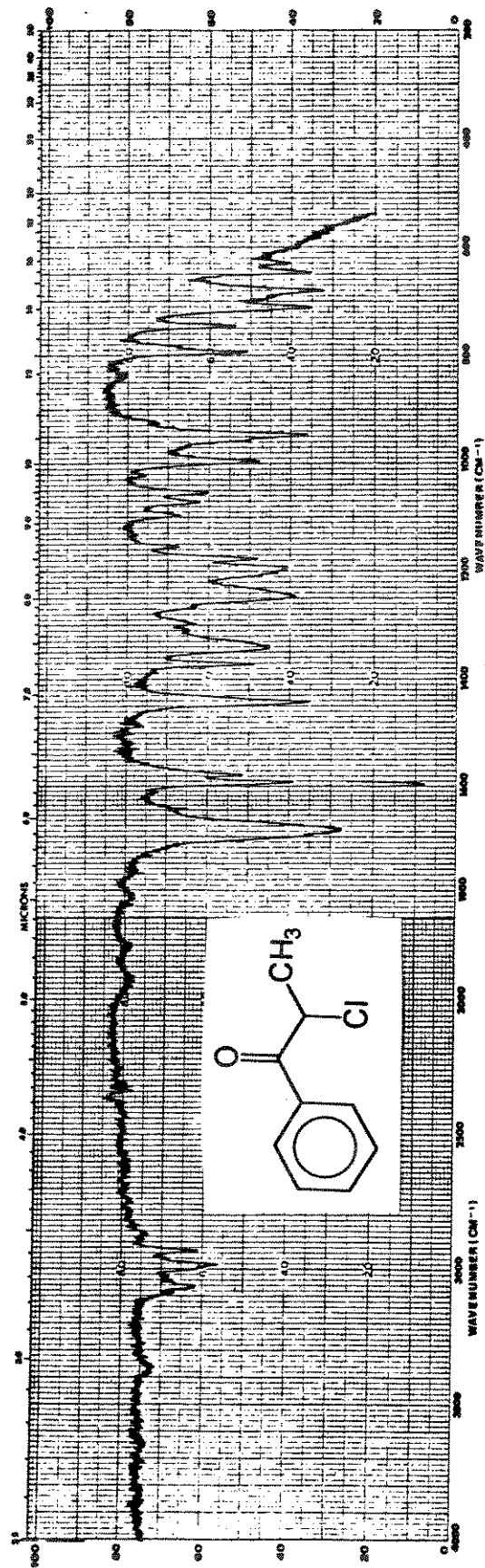
ESPECTRO RMN-¹H (80 MHz, CDCl₃) - Mistura de isômeros syn e anti do 1,2-Difenil-1,2-etanodiol (27)



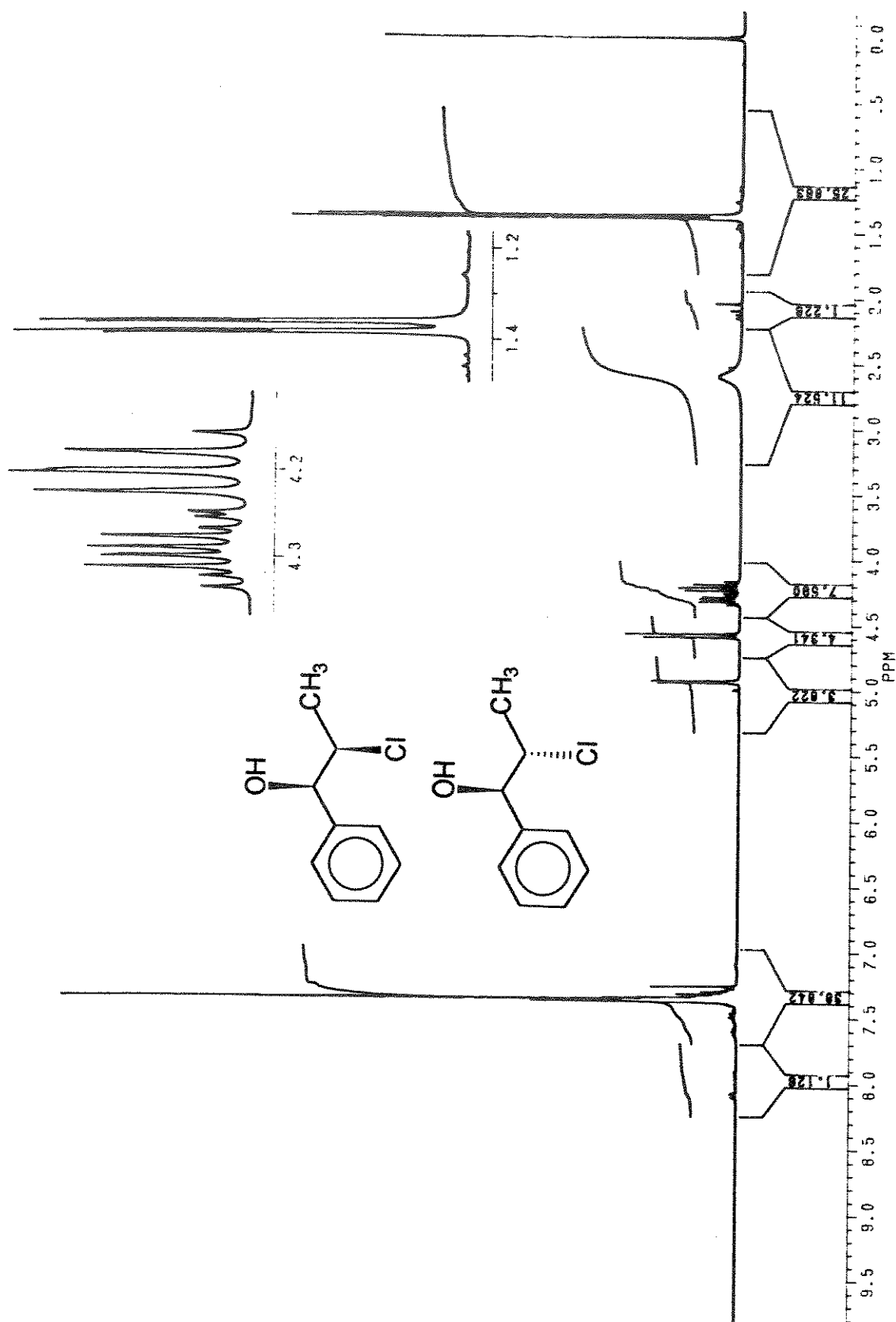
ESPECTRO IV (KBr) - Mistura de isômeros syn e anti do 1,2-Difenil-1,2-etanodiol (27)



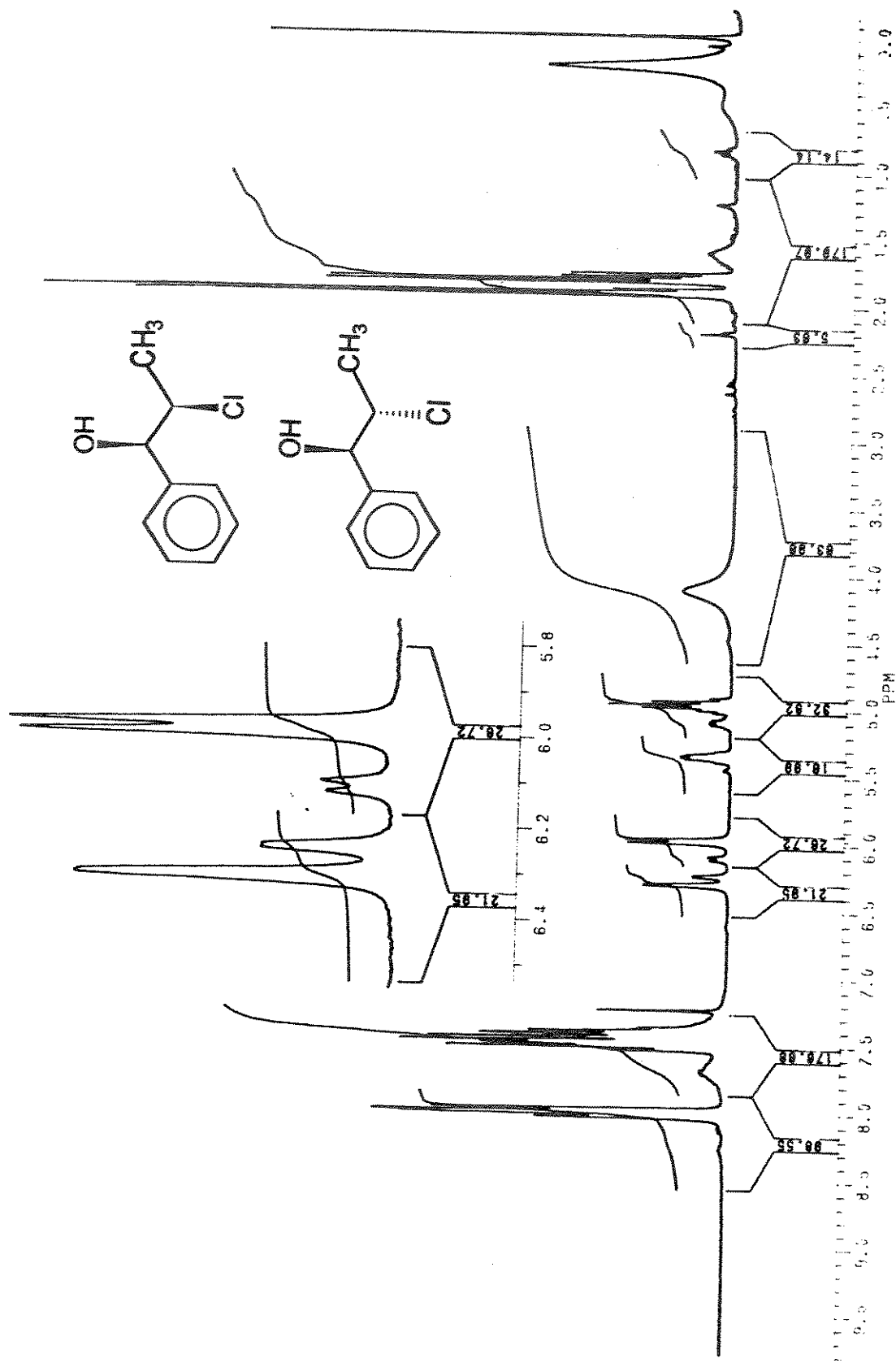
ESPECTRO RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) - (+)-2-Cloropropiofenona (28)



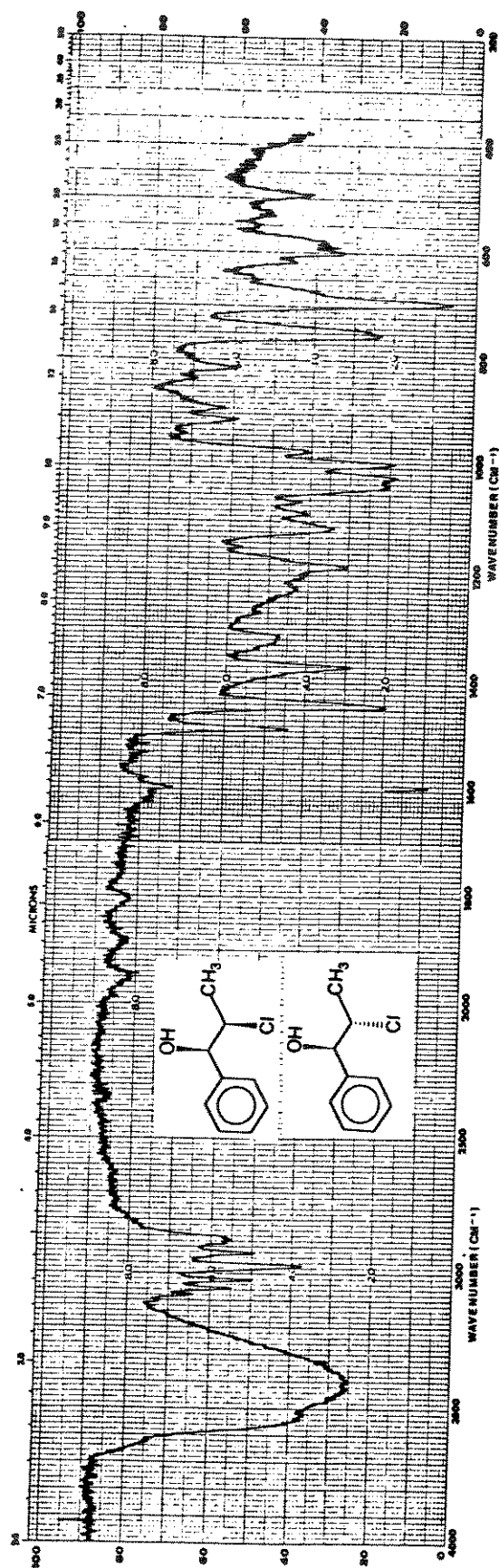
ESPECTRO IV (filme) - (+)-2-Cloropropiofenona (28)



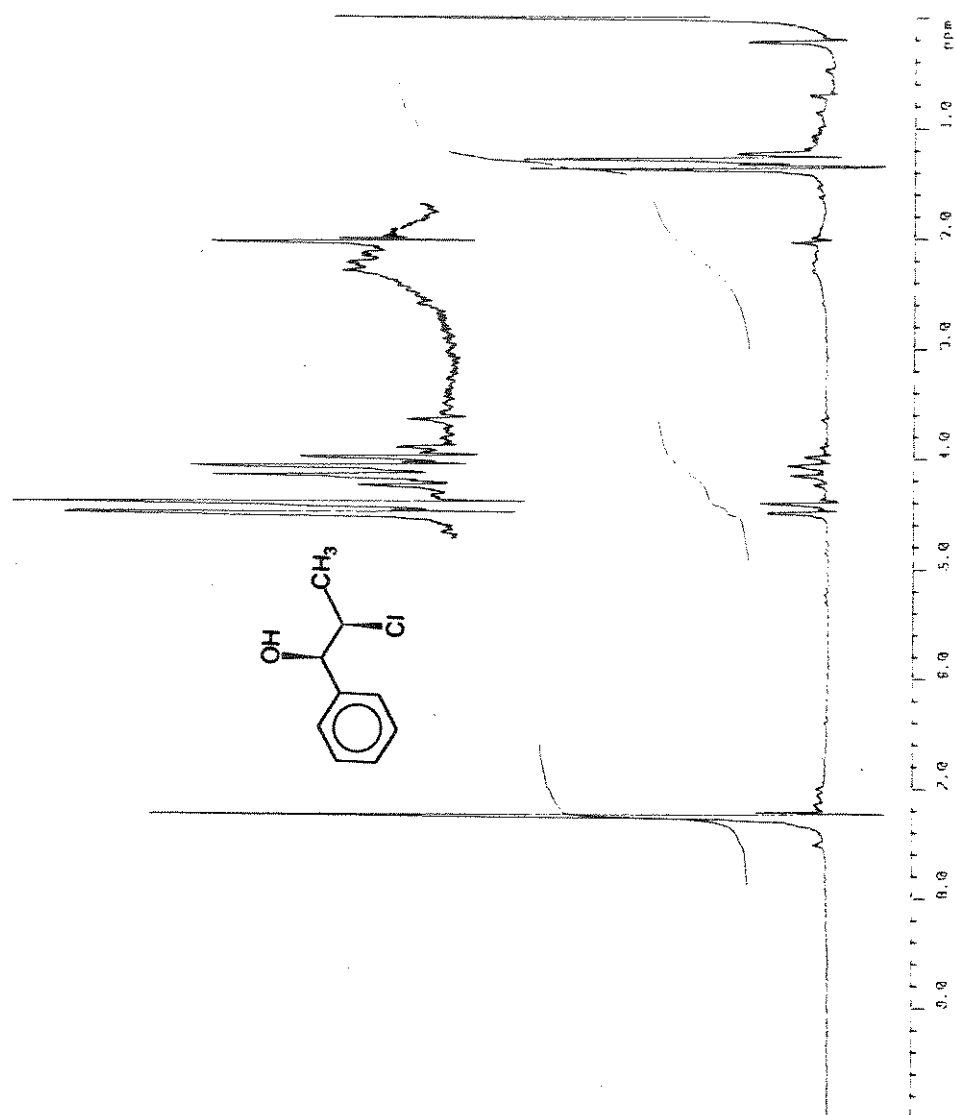
ESPECTRO RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) - Mistura de isômeros syn e anti do 2-Cloro-1-fenil-1-propanol (29)



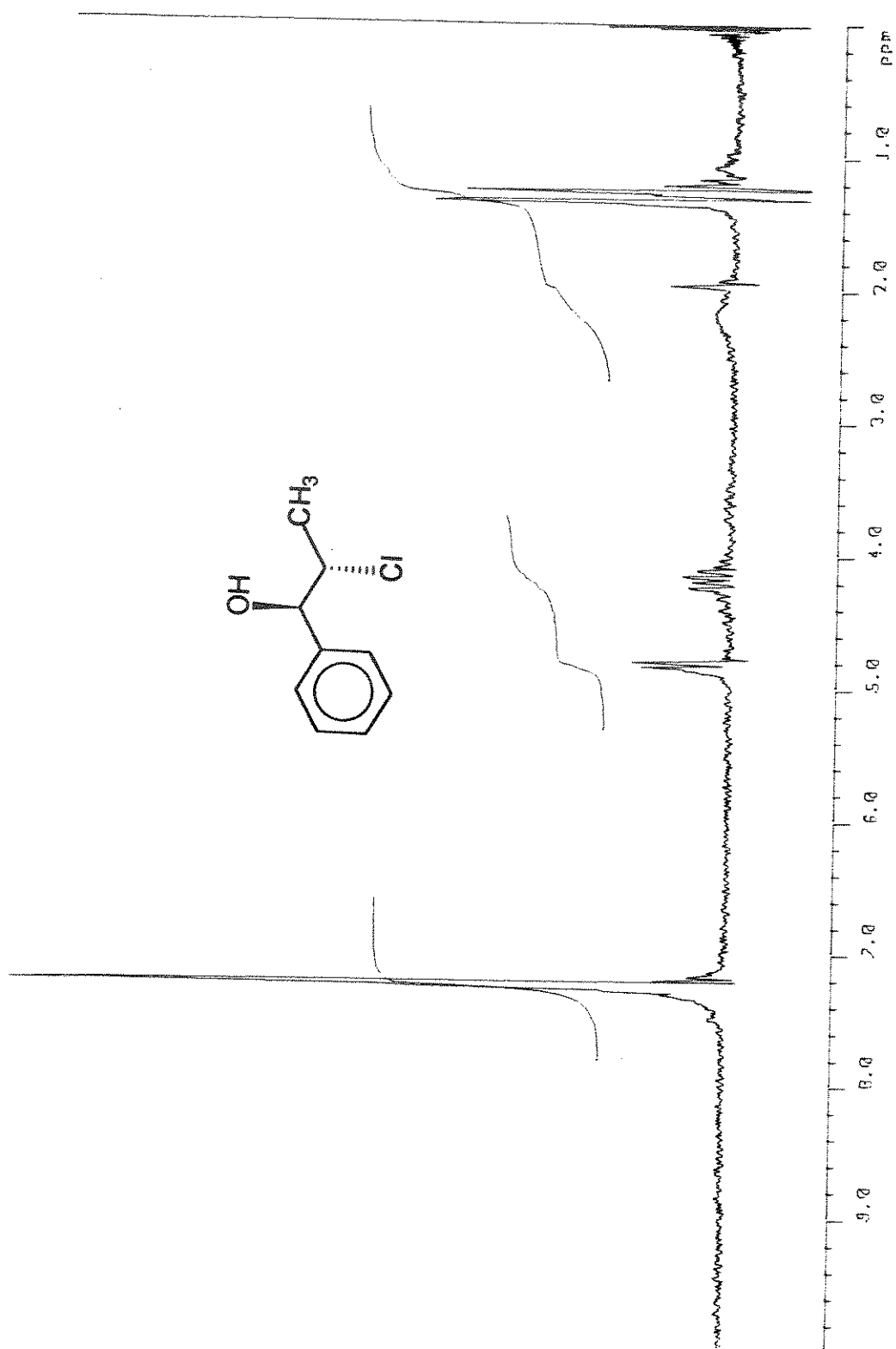
ESPECTRO RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) - Mistura de isômeros *syn* e *anti* do 2-Cloro-1-fenil-1-propanol (29) na presença de (+)-Eu(hfc)₃ (1)



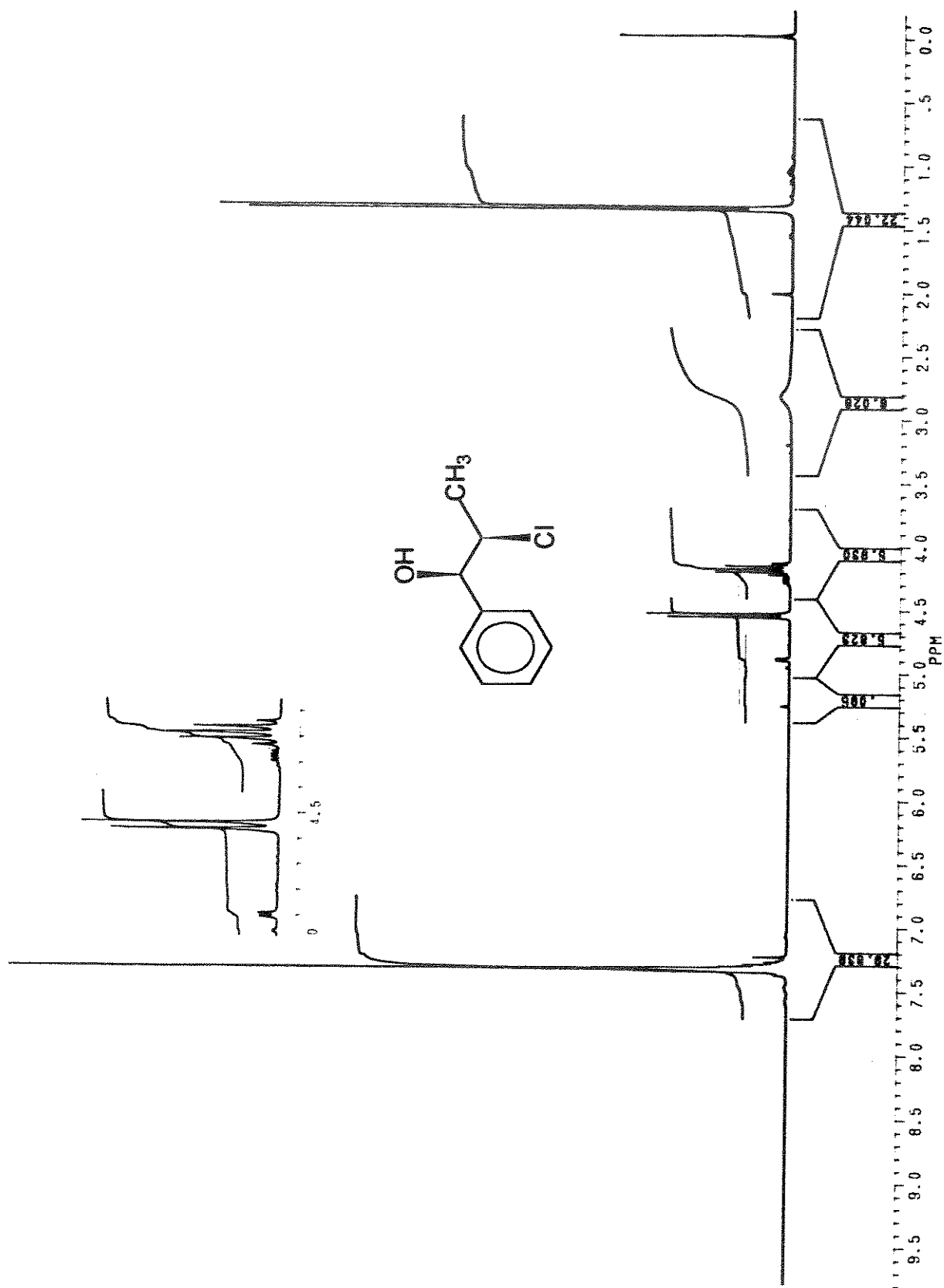
ESPECTRO IV (filme) - Mistura de isômeros syn e anti do 2-Cloro-1-fenil-1-propanol (29)



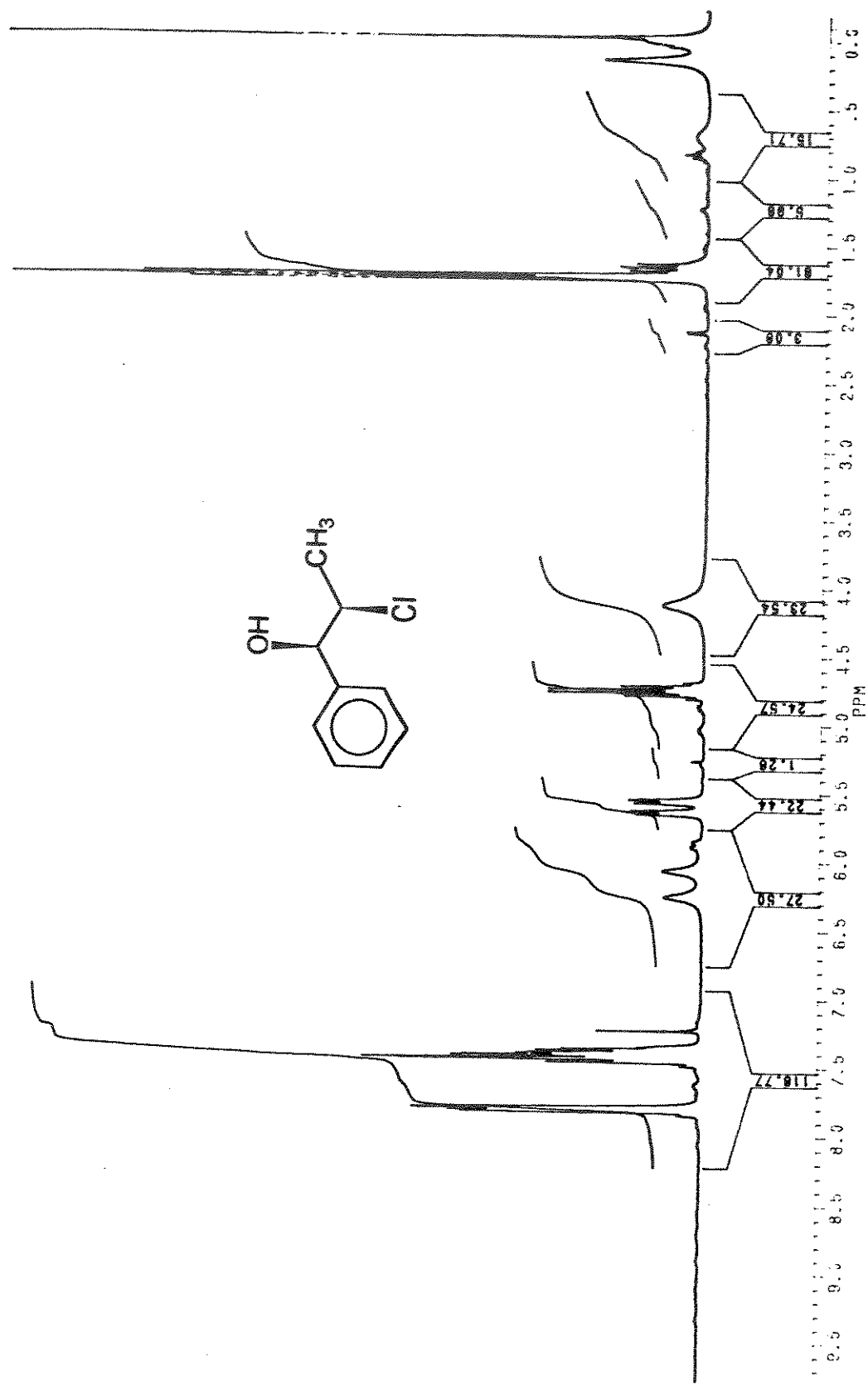
ESPECTRO RMN- ^1H (80 MHz, CCl_4) - syn-(1R,2R)-(-)-2-Cloro-1-fenil-1-propanol (29)



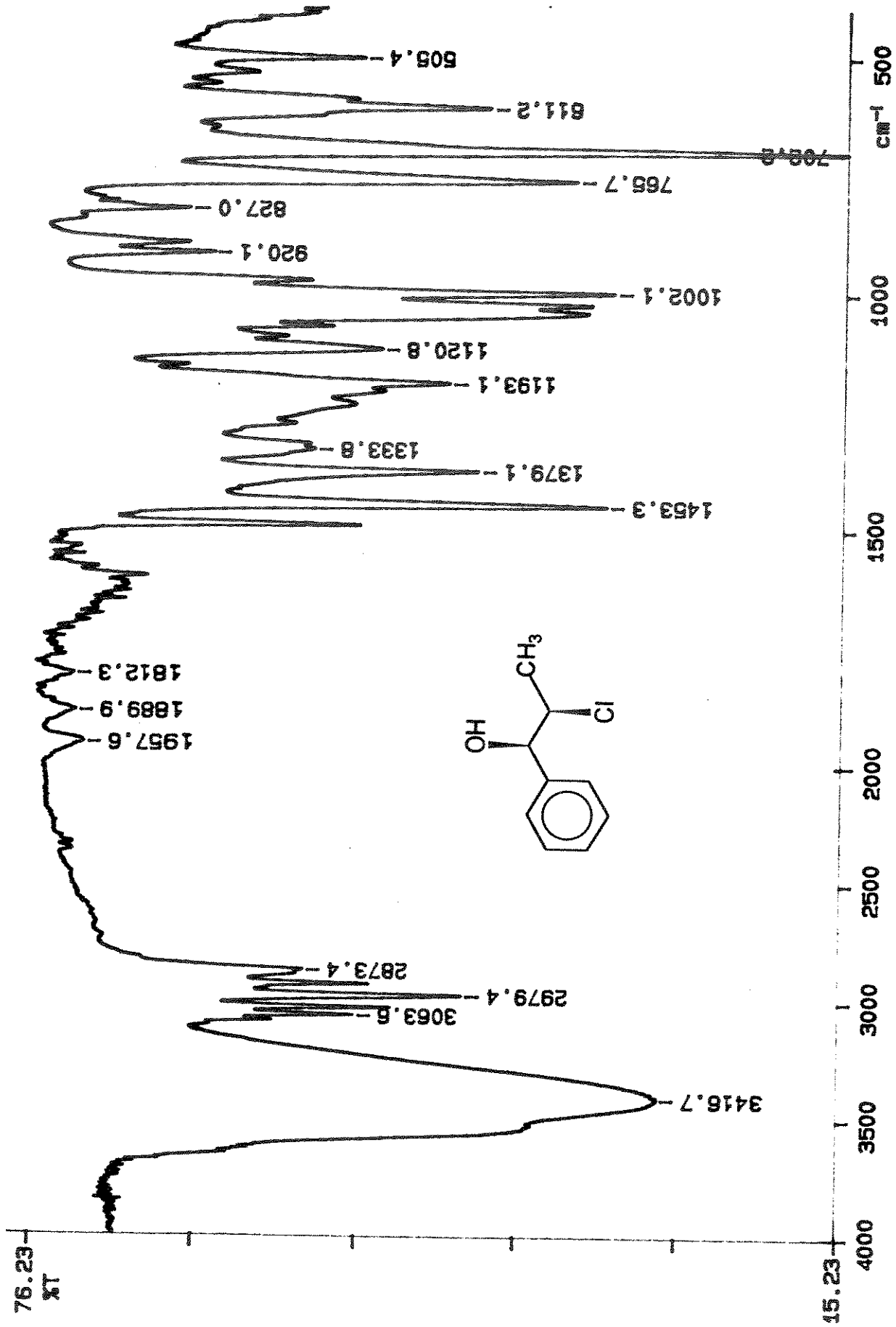
ESPECTRO RMN-¹H (80 MHz, CCl₄) - **anti-(1R,2S)-(-)-2-chloro-1-phenyl-1-propanol (29)**



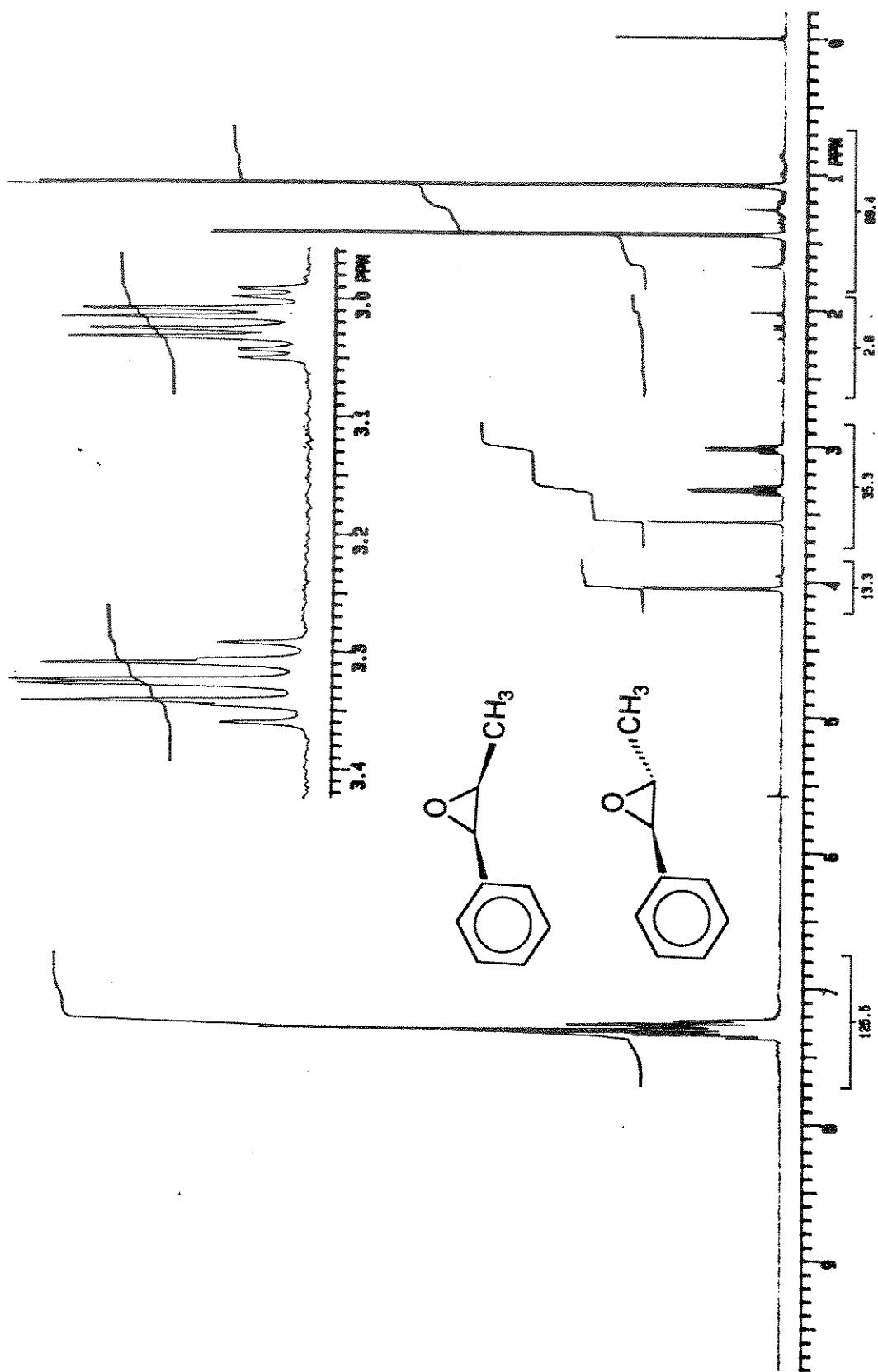
ESPECTRO RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) - *syn*-(±)-2-Cloro-1-fenil-1-propanol (29)



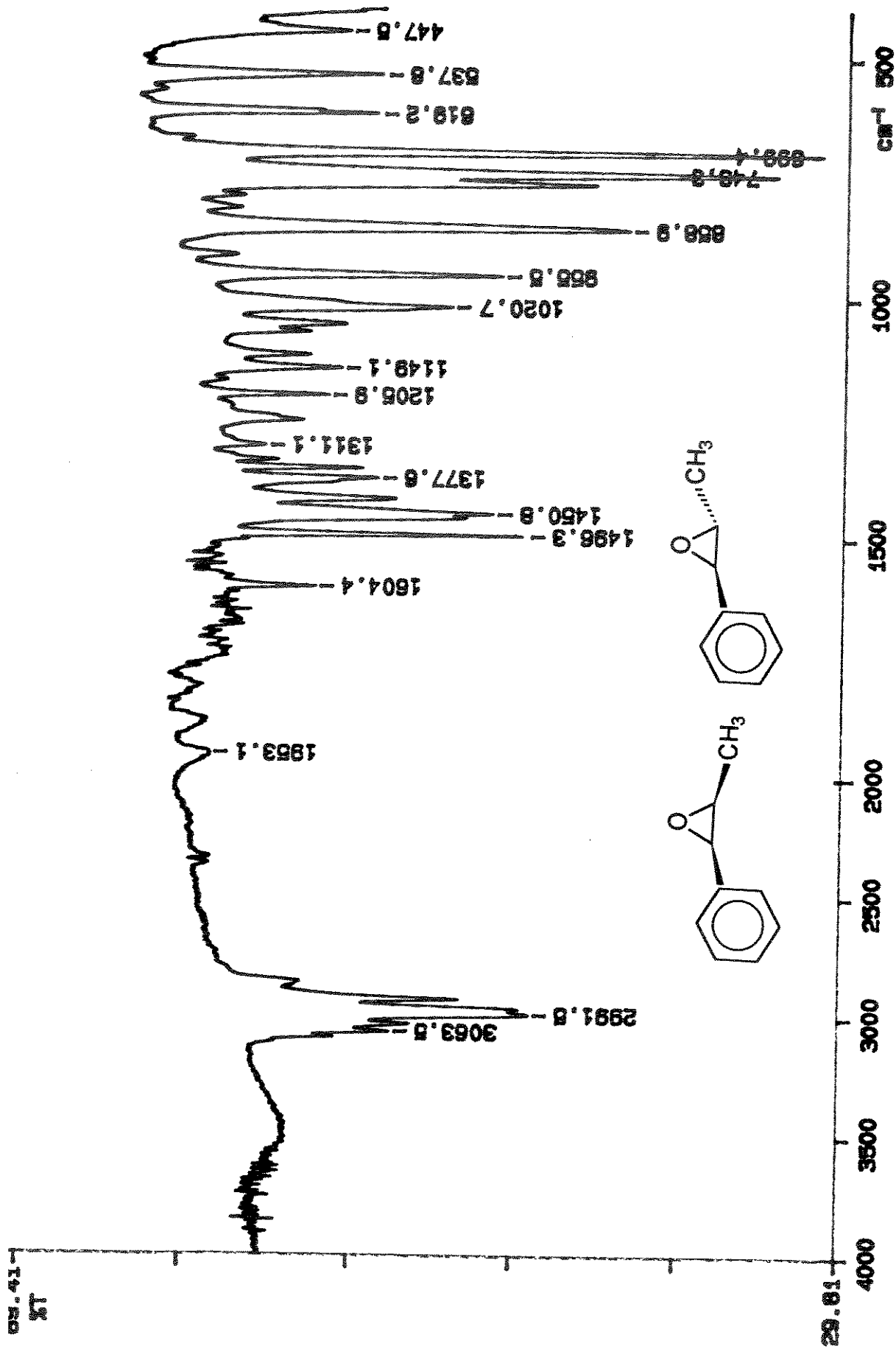
ESPECTRO RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) - *syn*-(±)-2-Cloro-1-fenil-1-propanol (29) na presença de (+)-Eu(hfc)₃ (1)



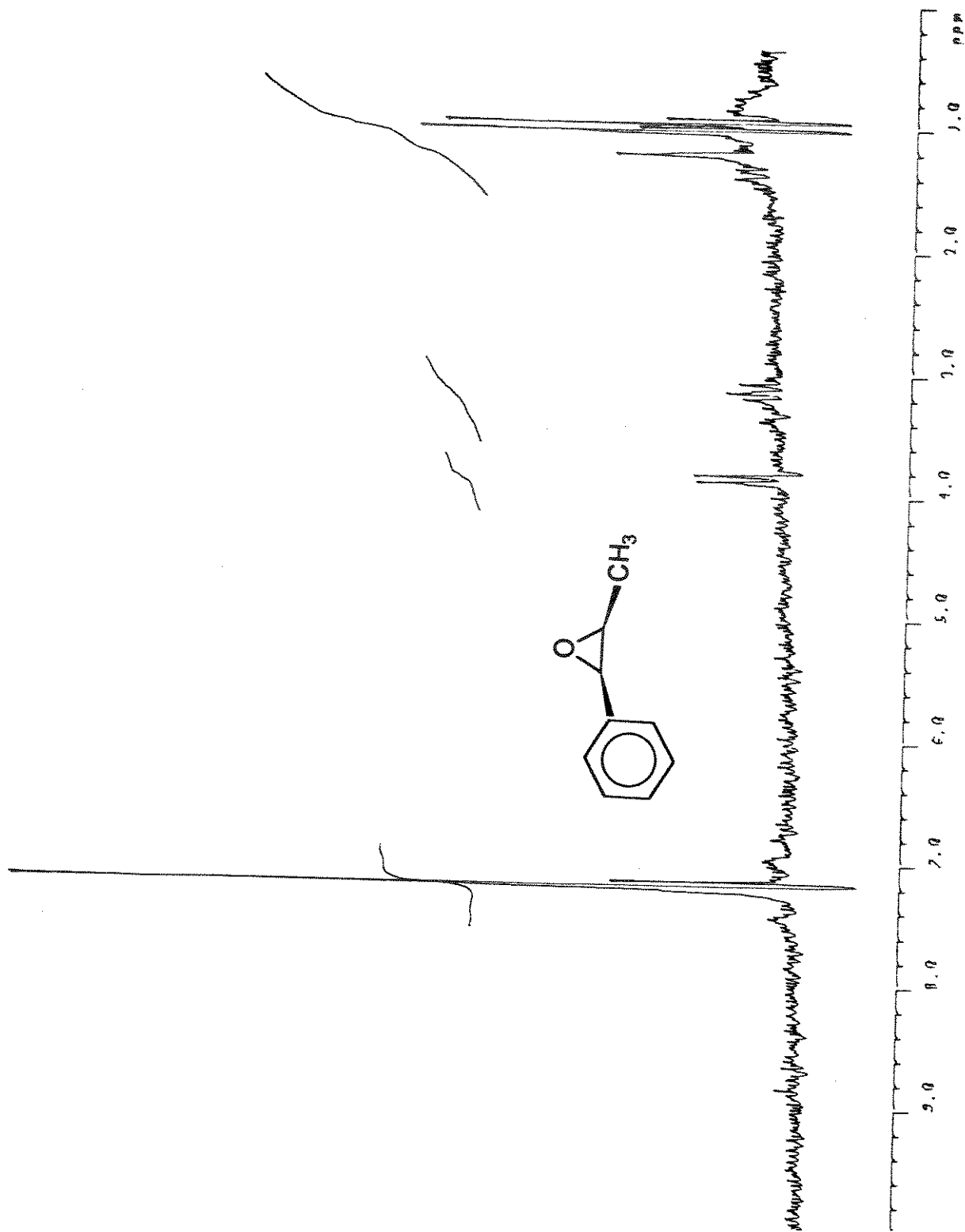
ESPECTRO IV (filme, FTIR) - syn-(+)-2-cloro-1-fenil-1-propanol (29)



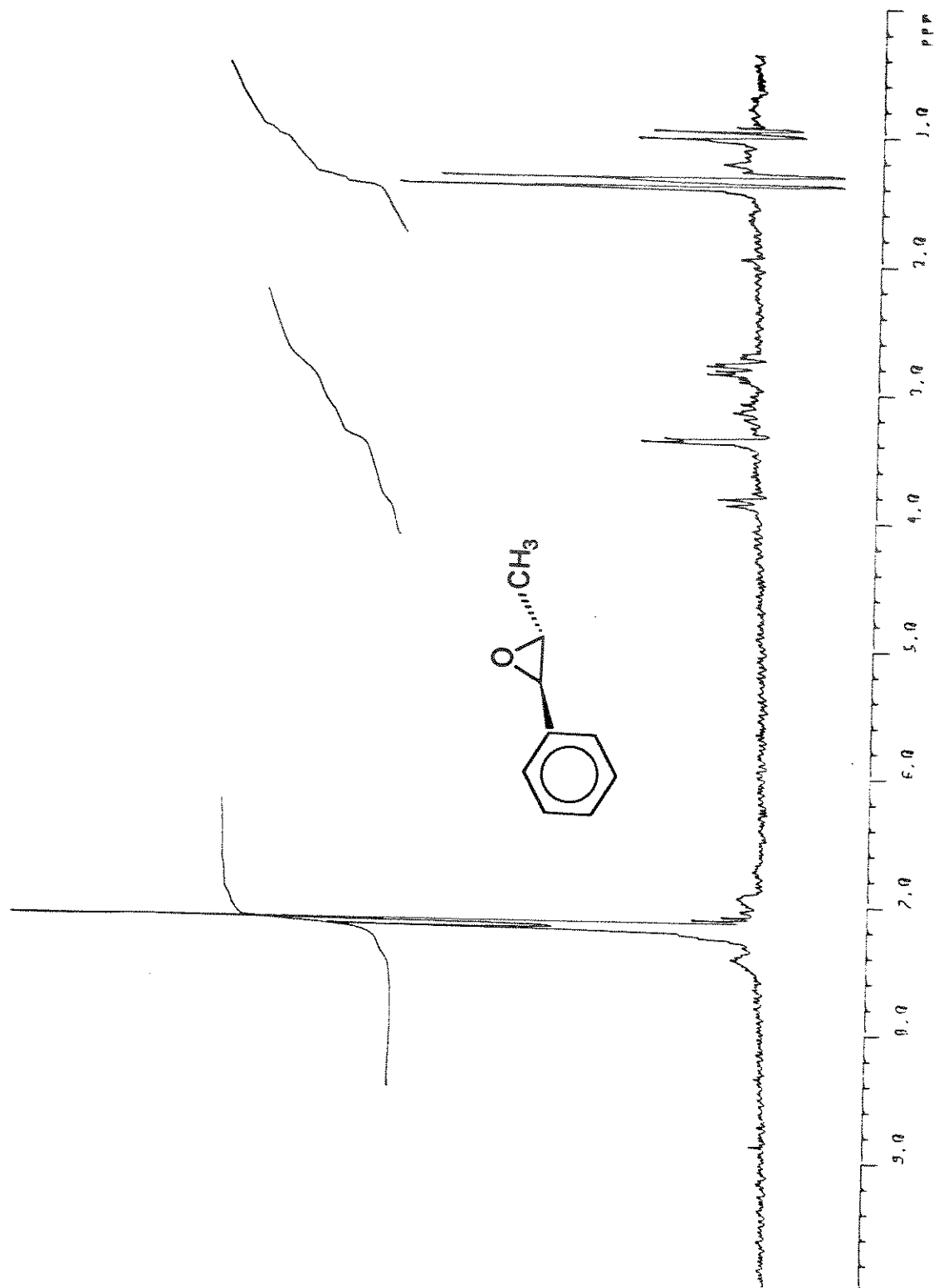
ESPECTRO RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) - Mistura de isômeros cis e trans do 1-Fenil-1,2-epóxiopropano (30)



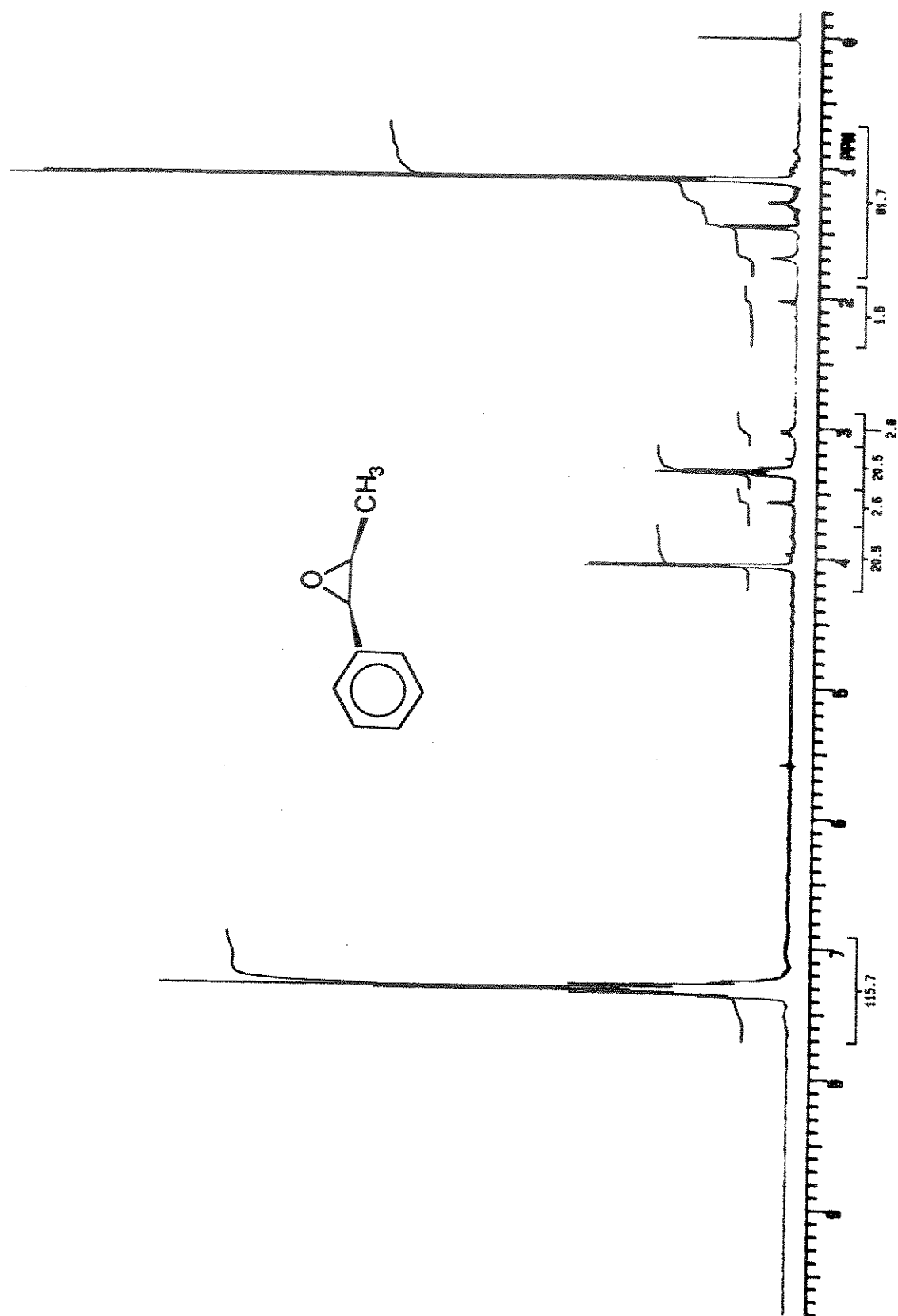
ESPECTRO IV (filme, FTIR) - Mistura de isômeros cis e trans do 1-Fenil-1,2-epóxiopropano (30)



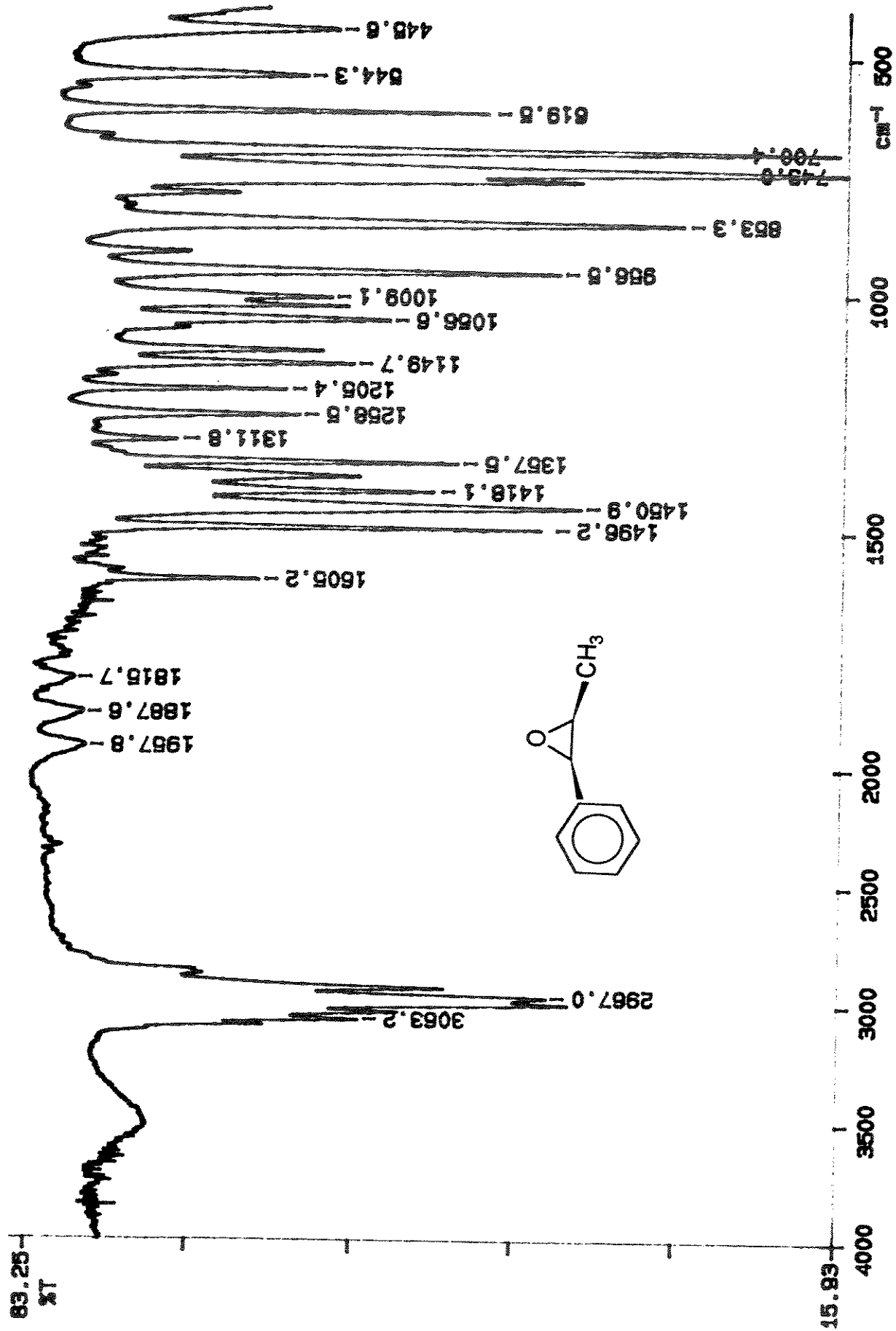
ESPECTRO RMN- ^1H (80 MHz, CCl_4) - **cis-(1R,2S)-(-)-1-Fenil-1,2-epóxiopropano (30)**



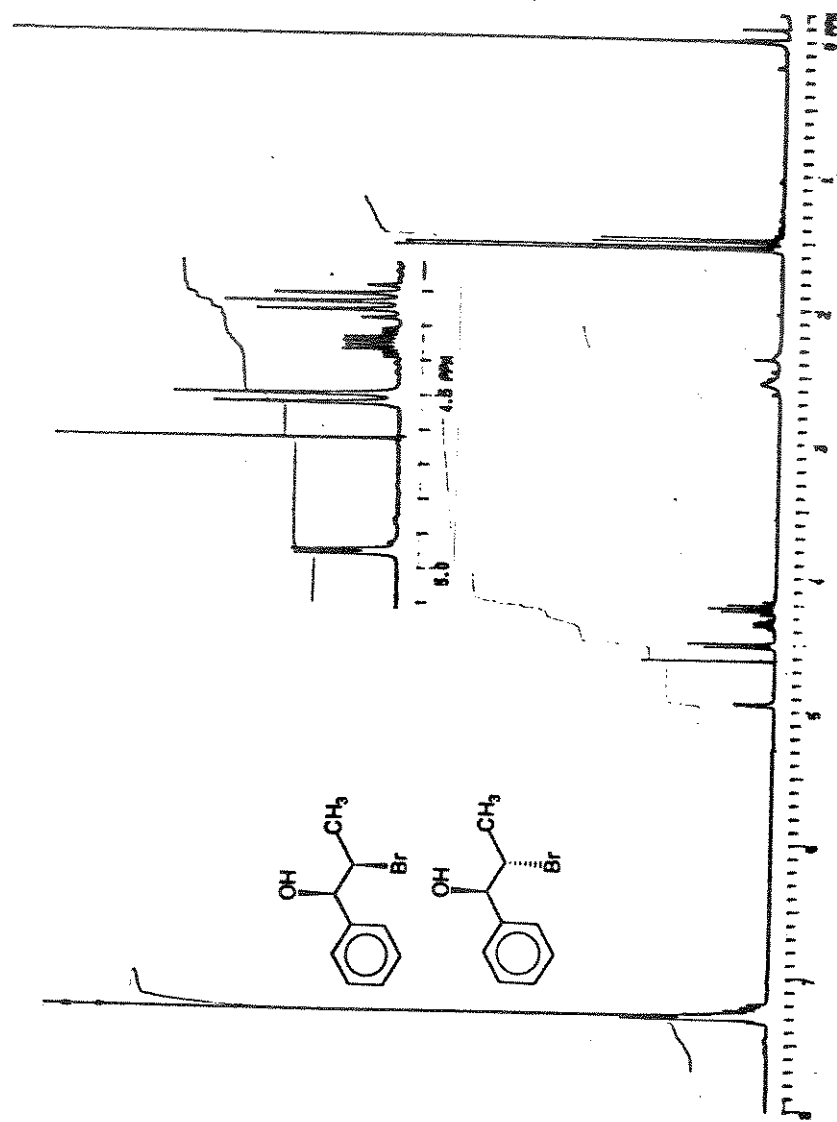
ESPECTRO RMN-1H (80 MHz, CCl₄) - trans-(1R,2R)-(+)-1-Fenil-1,2-epóxiopropano (30)



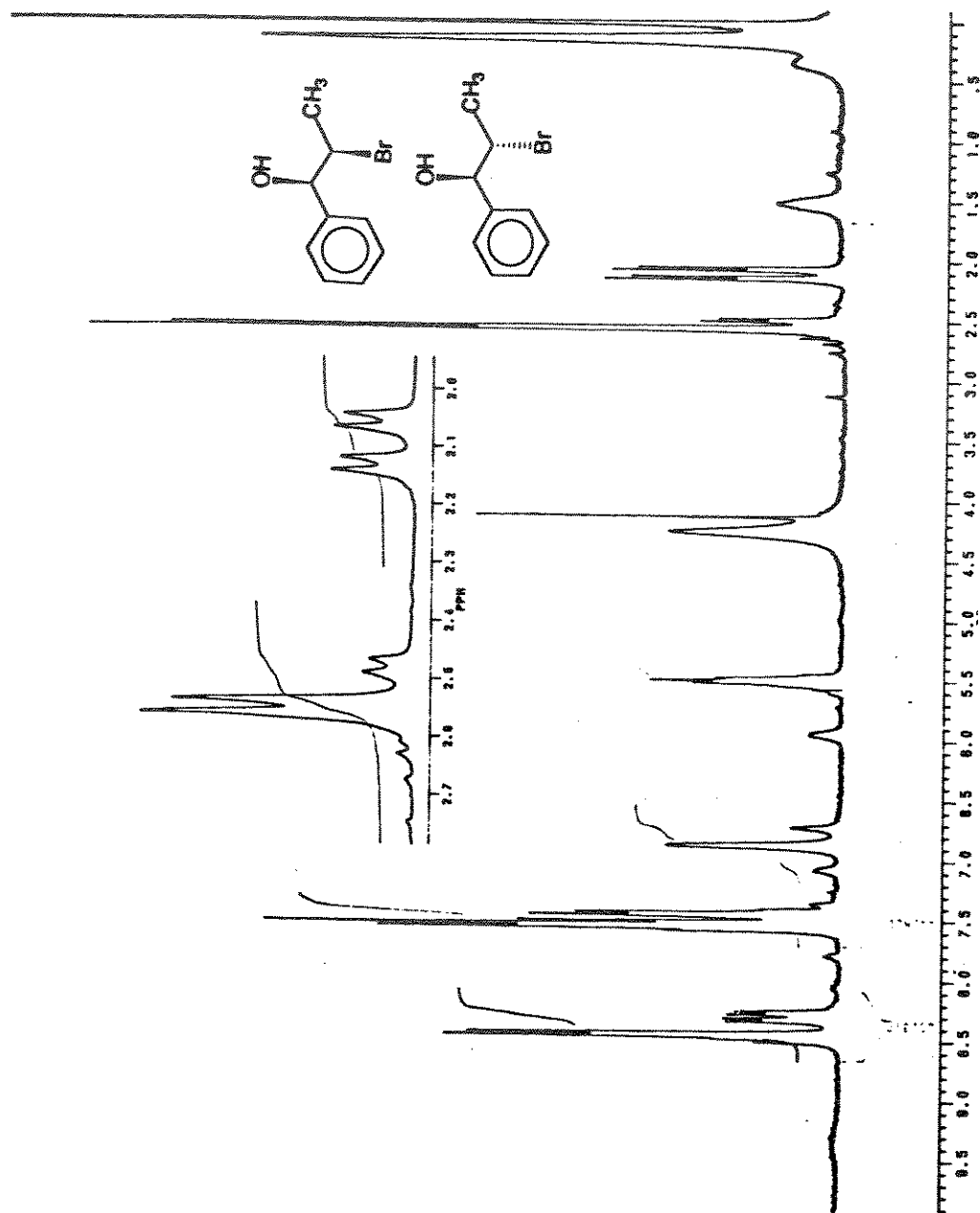
ESPECTRO RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) - *cis*-(+)-1-Fenil-1,2-epóxiopropano (30)



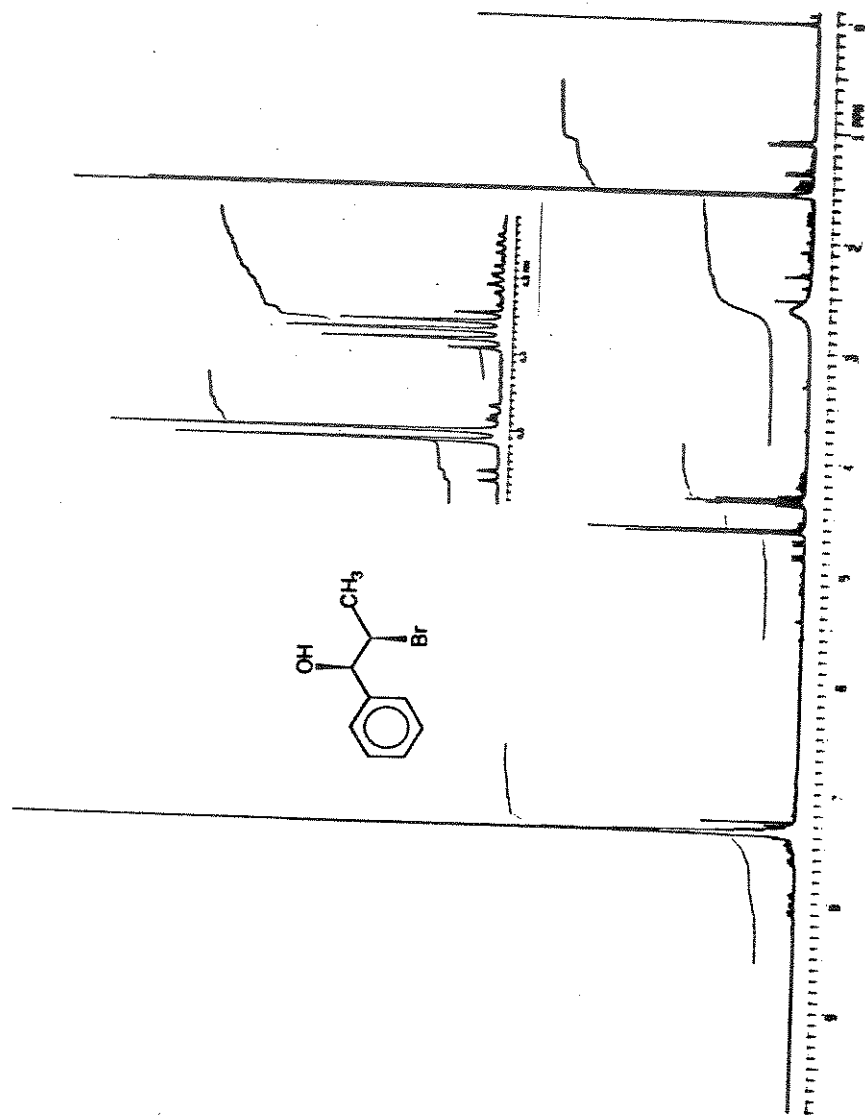
ESPECTRO IV (filme, FTIR) - *cis*-(+)-1-Fenil-1,2-epóxiopropano (30)



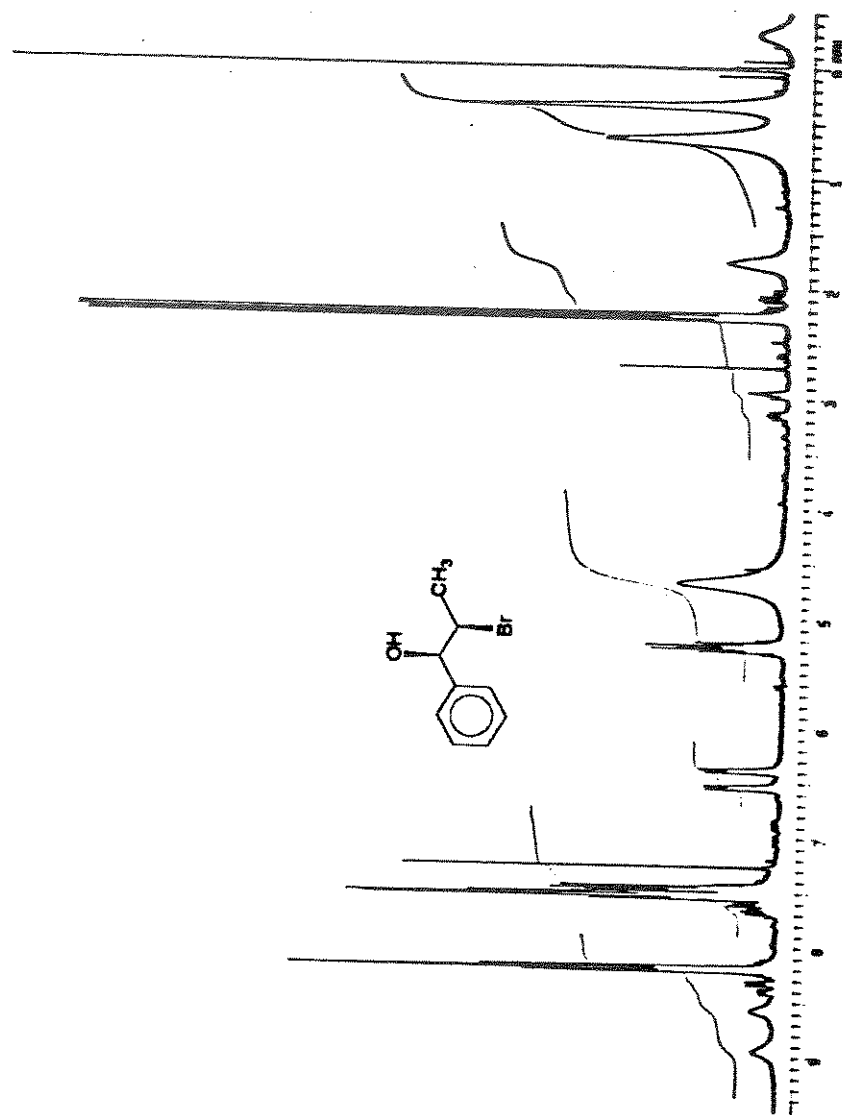
ESPECTRO RMN-1H (300 MHz, CCl₄) - Mistura de isômeros syn e anti do 2-Bromo-1-fenil-1-propanol (36)



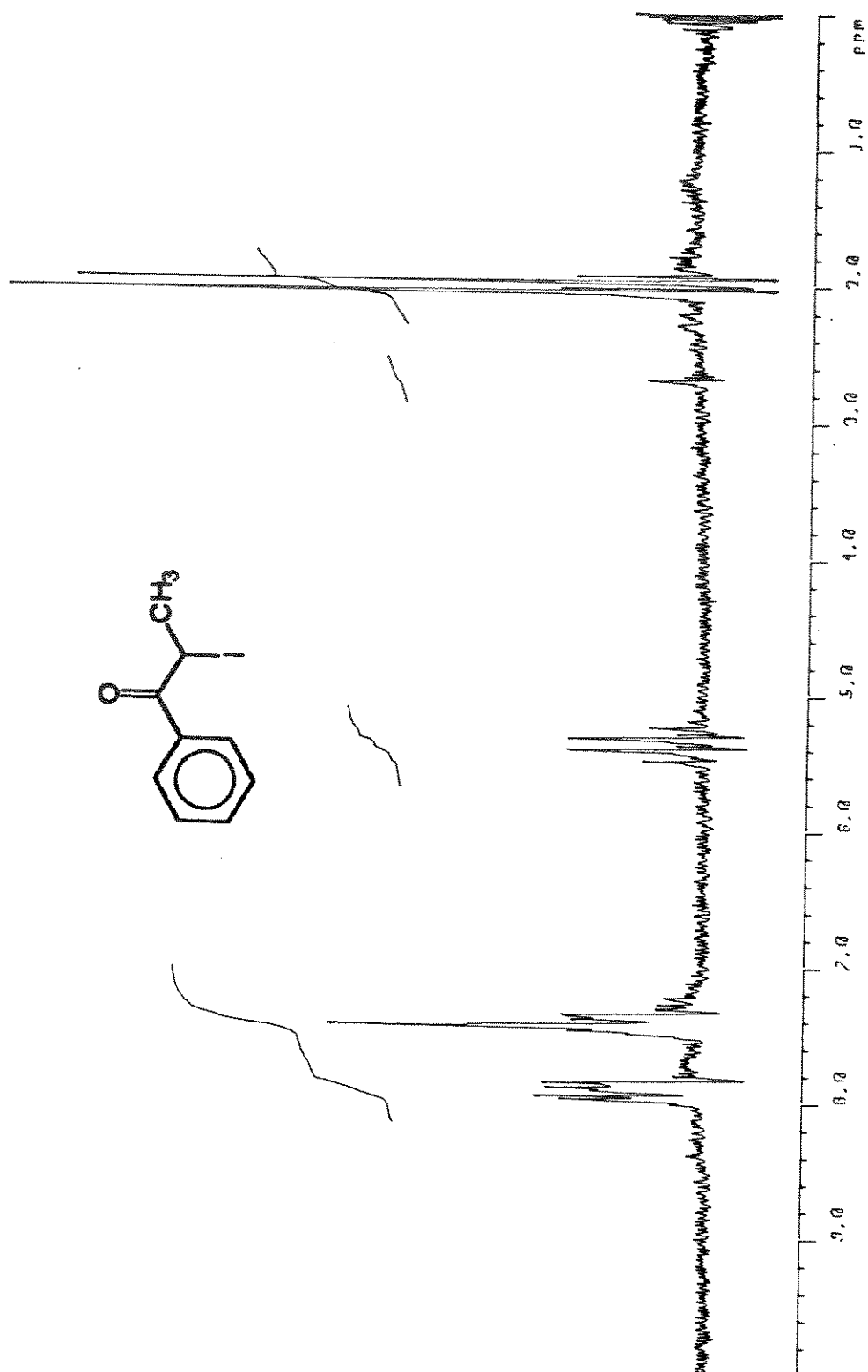
ESPECTRO RMN- ^1H (300 MHz, CCl_4) - Mistura de isômeros *syn* e *anti* do 2-Bromo-1-fenil-1-propanol (36) na presença de (+)- $\text{Eu}(\text{hfc})_3$ (1)



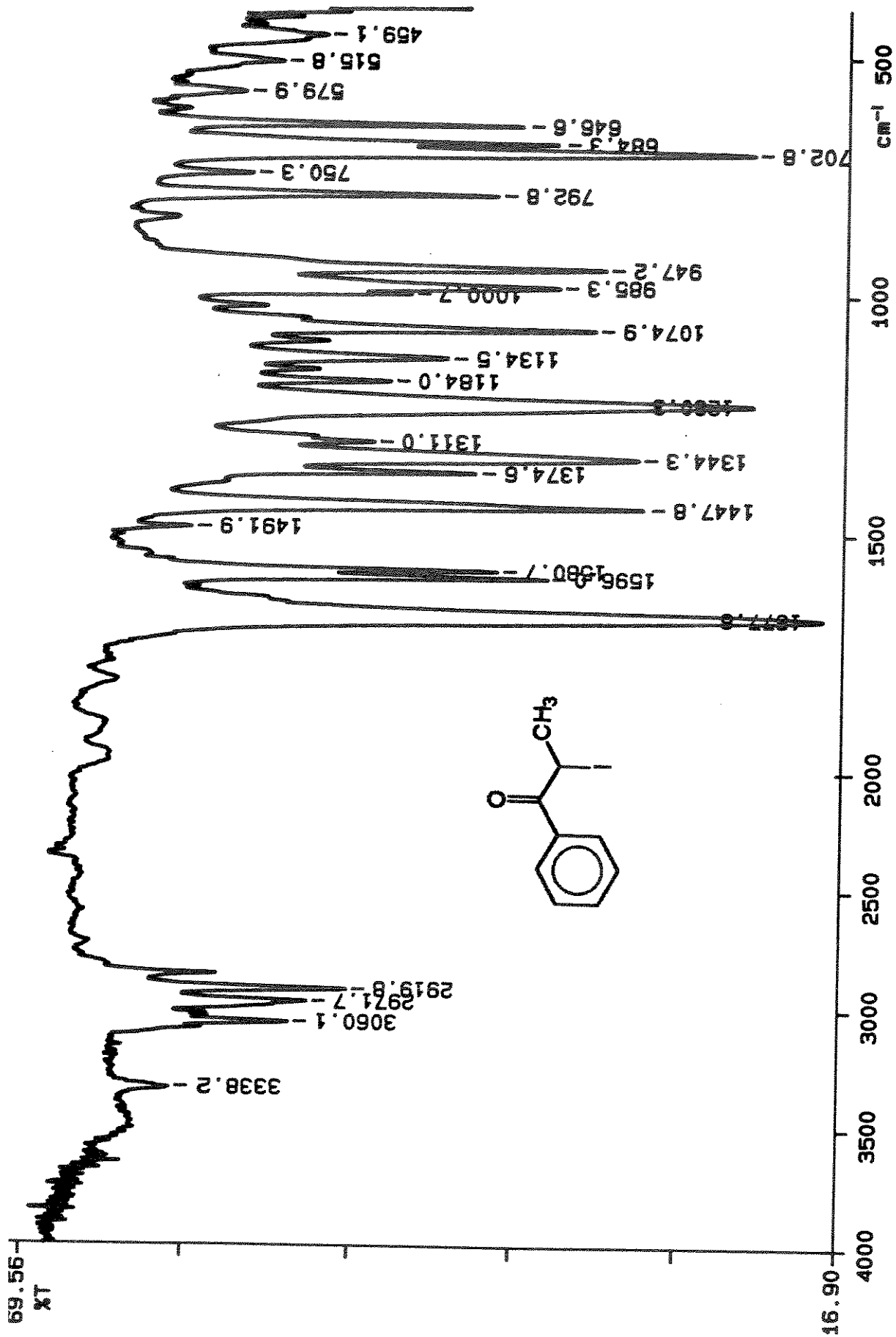
ESPECTRO RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) - *syn*-($\pm$)-2-Bromo-1-fenil-1-propanol (36)



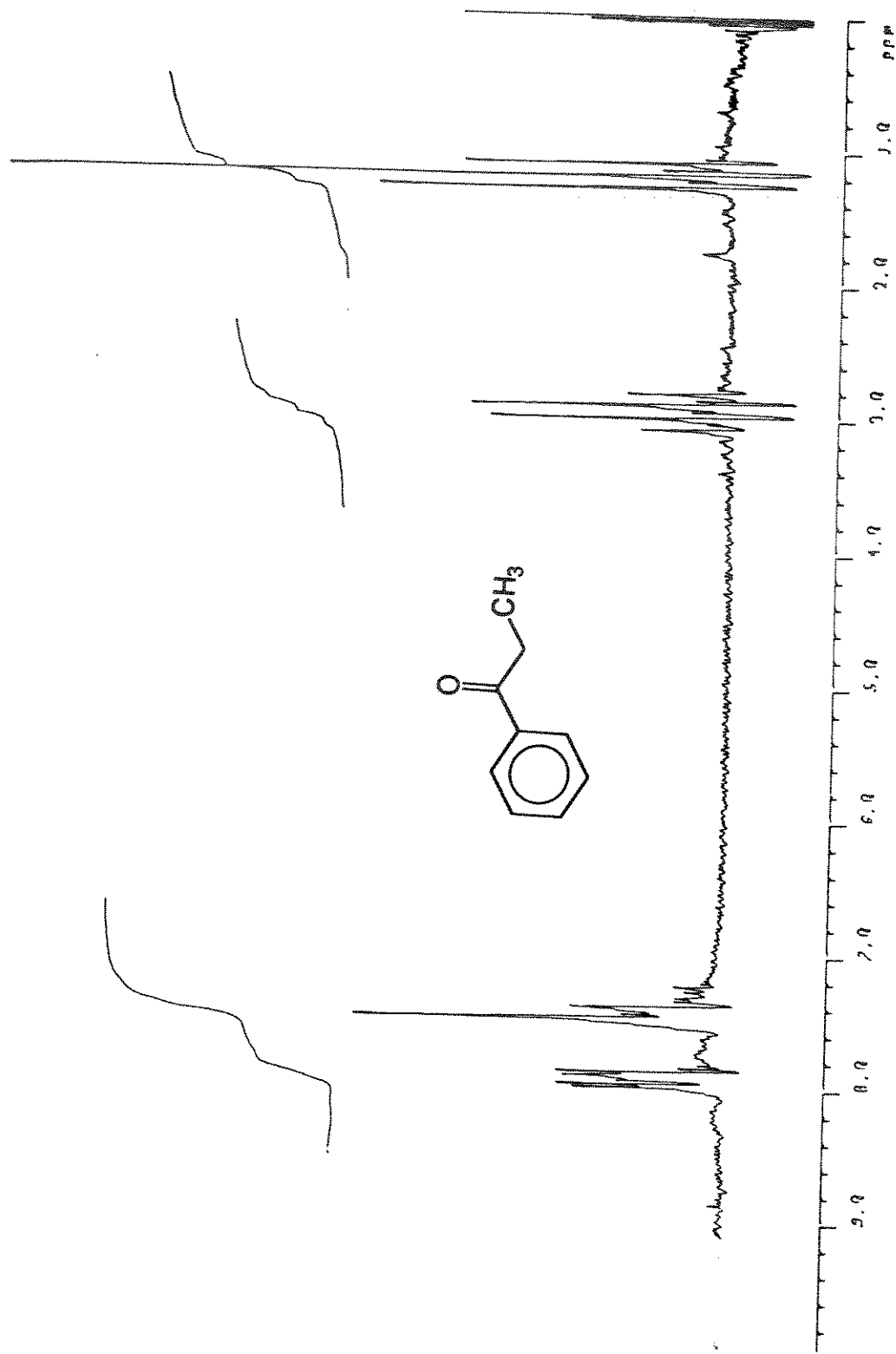
ESPECTRO RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) - *syn*-(±)-2-Bromo-1-*fenil*-1-propanol (36) na presença de (+)-Eu(hfc)₃ (1)



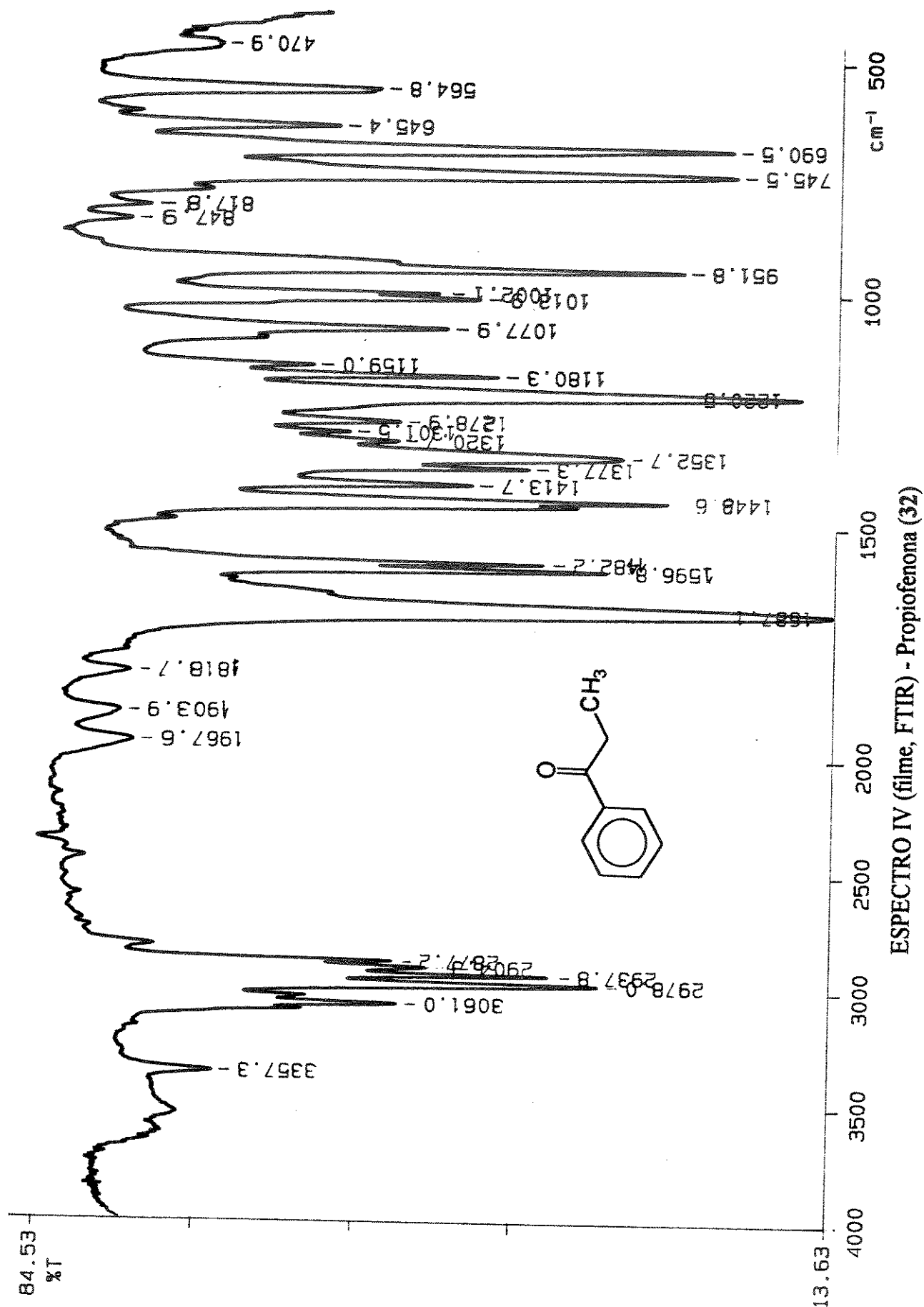
ESPECTRO RMN- ^1H (80 MHz, CCl_4) - (±)-2-Iodopropiophenona (37)

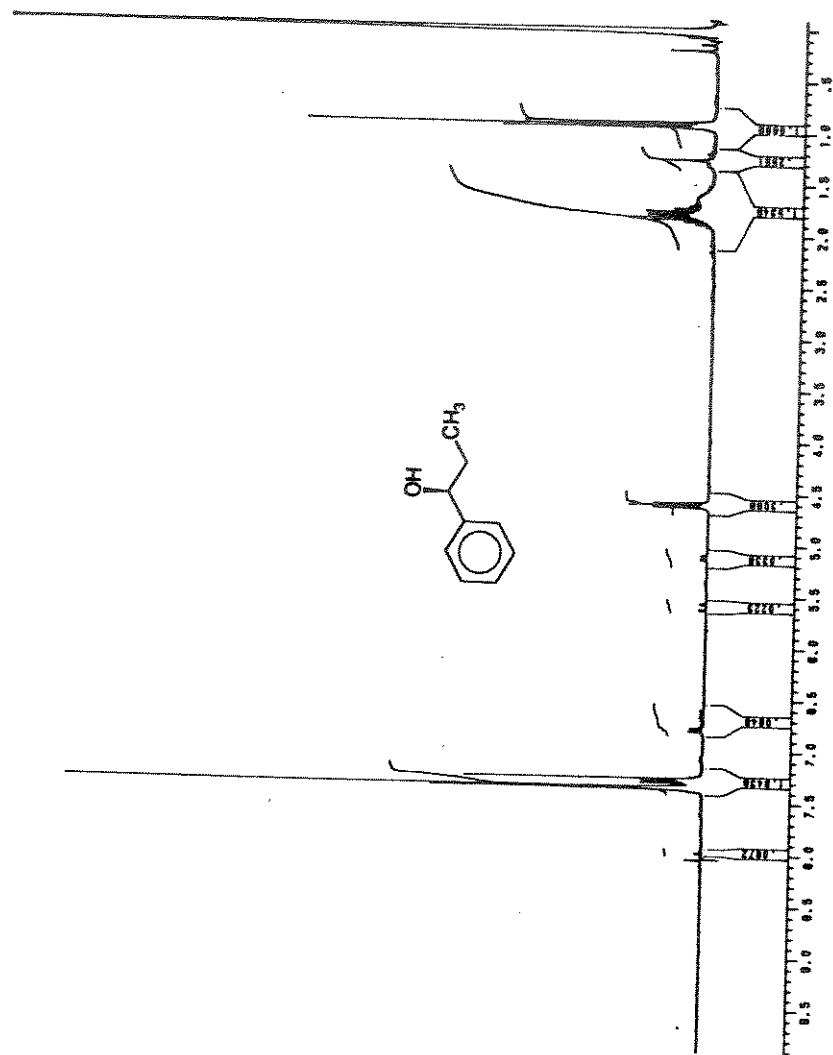


ESPECTRO IV (filme, FTIR) - (+)-2-Iodopropiopenona (37)

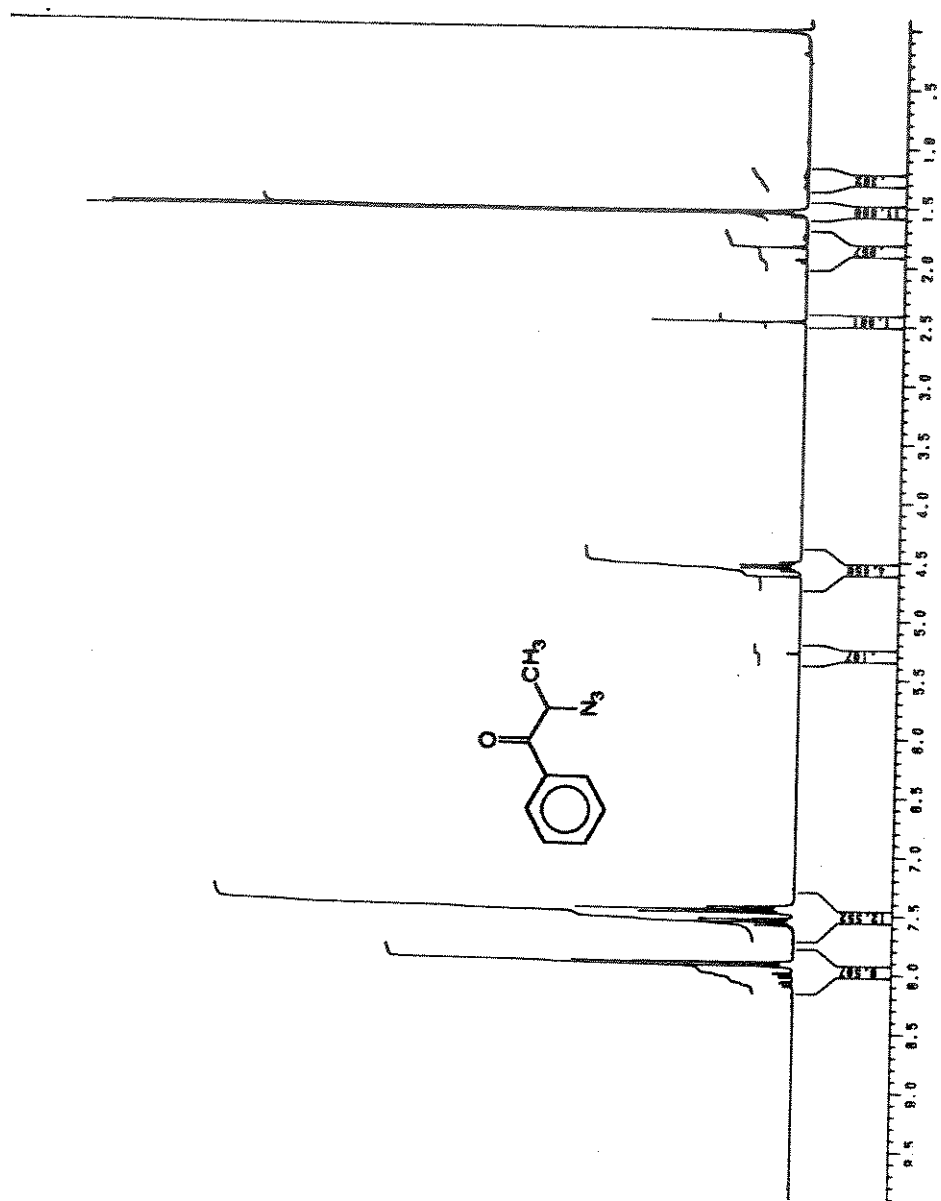


ESPECTRO RMN- ^1H (80 MHz, CDCl_3) - Propiofenona (32)

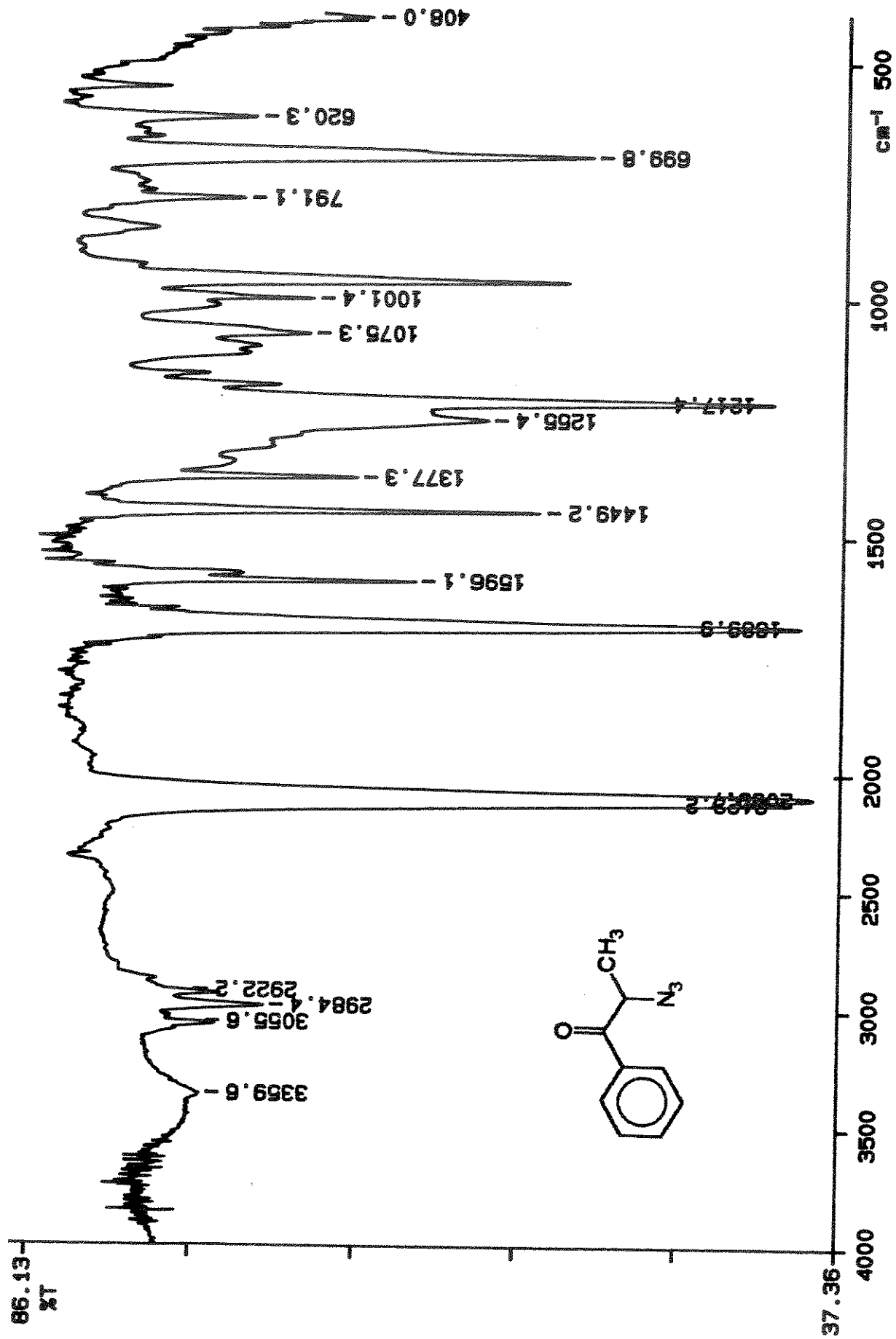




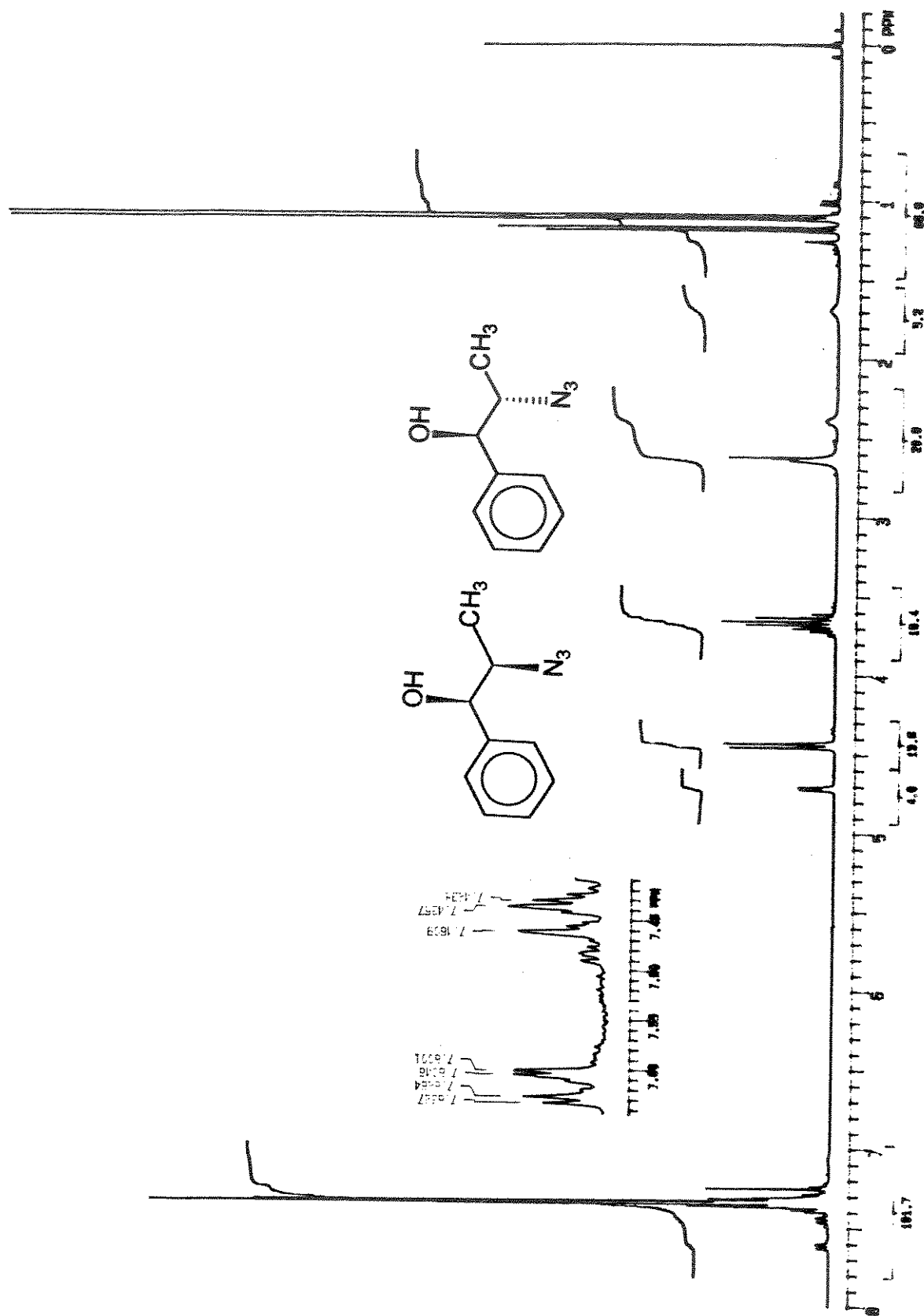
ESPECTRO RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) - 1-Fenil-1-propanol (38)



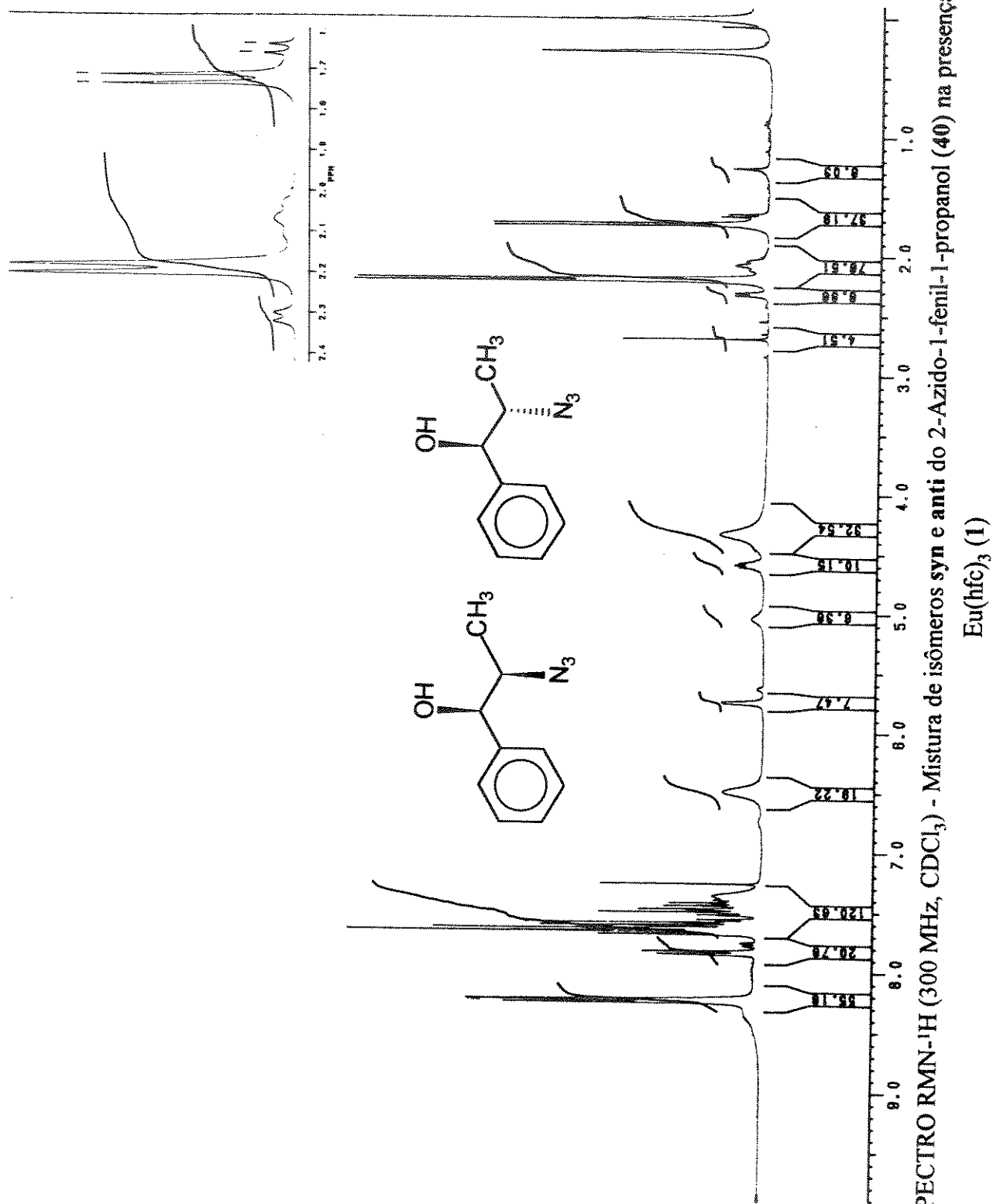
ESPECTRO RMN-¹H (300 MHz, CCl₄) - (+)-2-Azidopropiopenona (39)



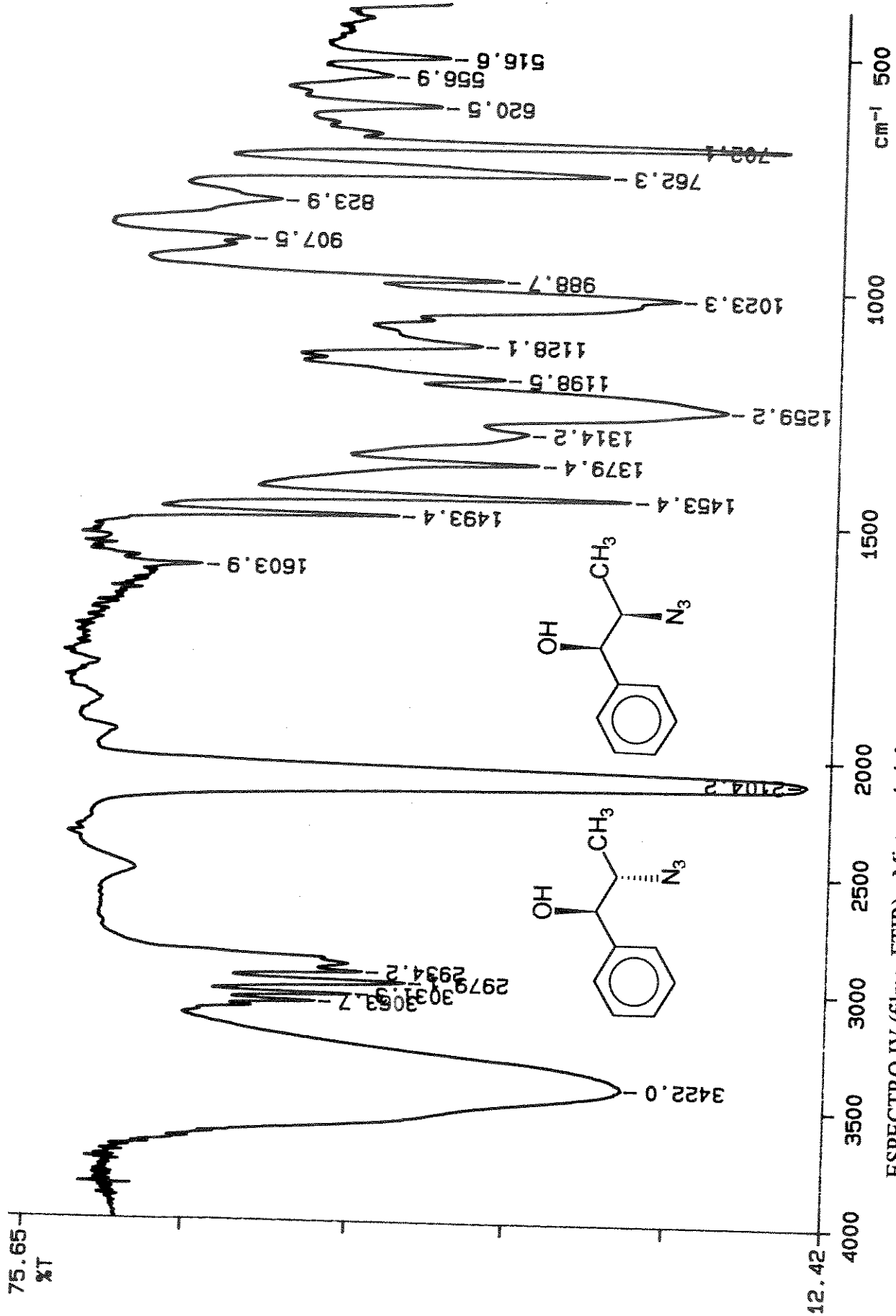
ESPECTRO IV (filme, FTIR) - (+)-2-Azidopropiopenona (39)



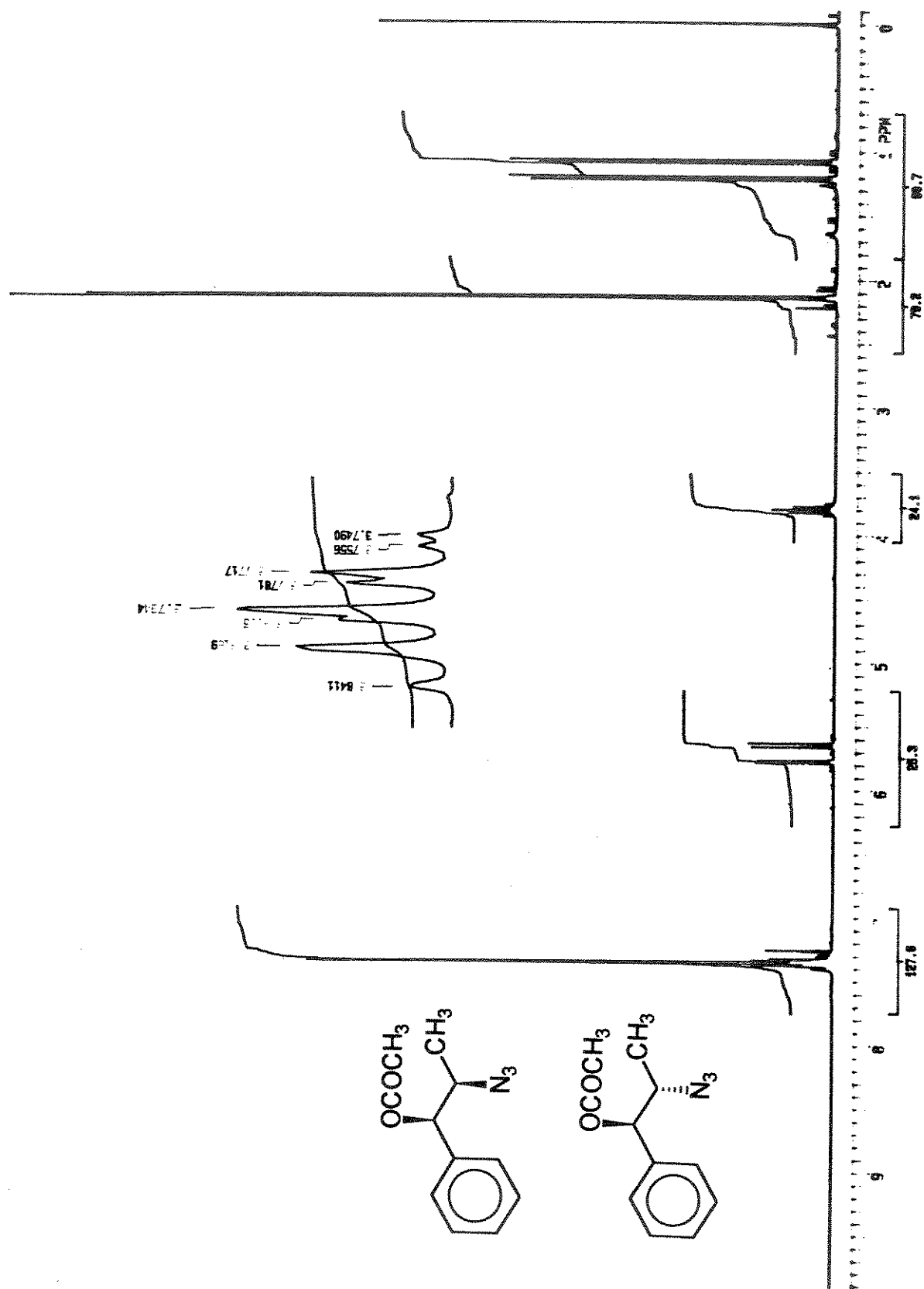
ESPECTRO RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) - Mistura de isômeros syn e anti do 2-Azido-1-fenil-1-propanol (40) com o isômero syn enriquecido através de cromatografia em camada delgada



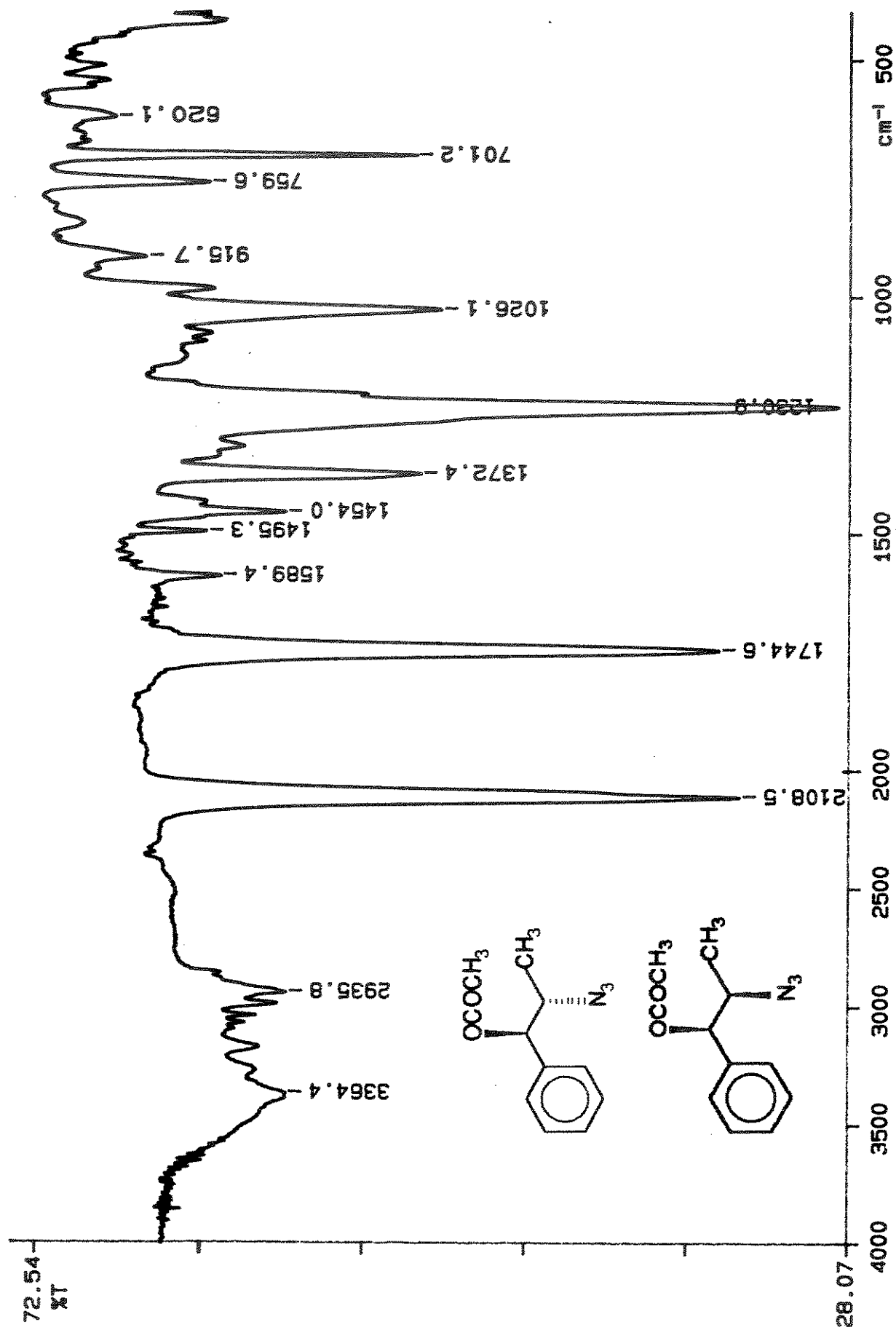
ESPECTRO RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) - Mistura de isômeros *syn* e *anti* do 2-Azido-1-fenil-1-propanol (40) na presença de (+)- $\text{Eu}(\text{hfc})_3$ (1)



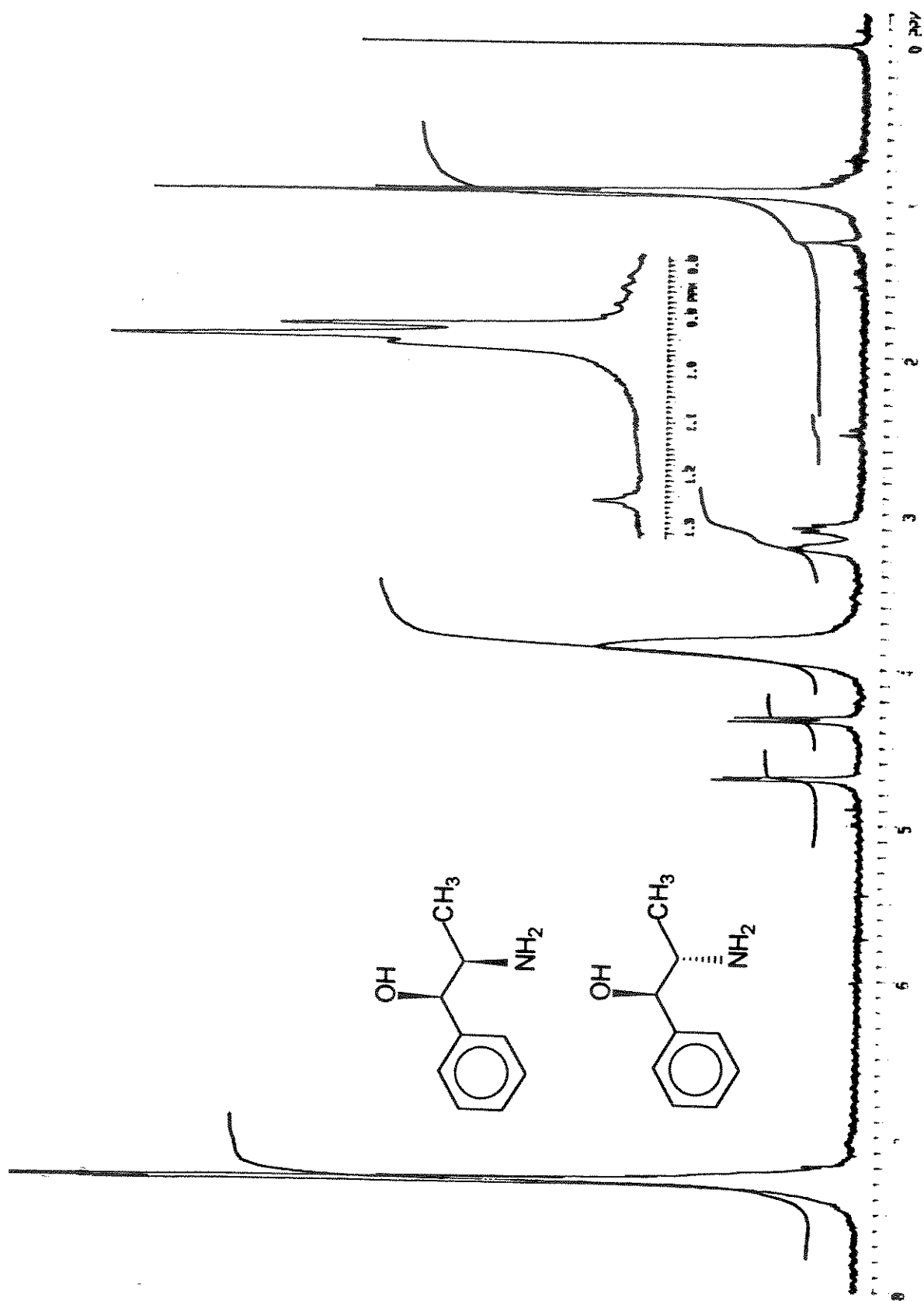
ESPECTRO IV (filme, FTIR) - Mistura de isômeros syn e anti do 2-Azido-1-fenil-1-propanol (40)



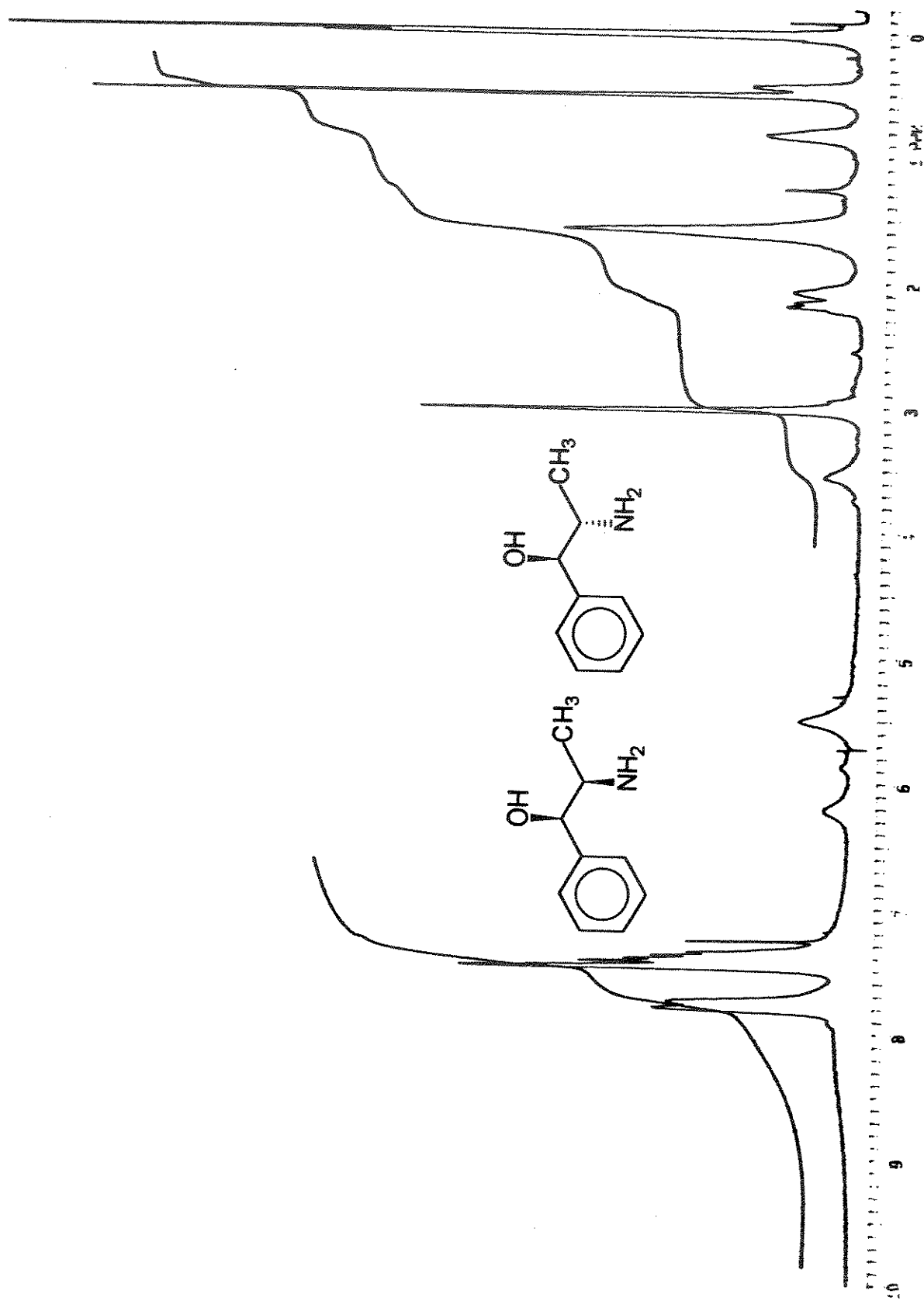
ESPECTRO RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) - Mistura de isômeros dos Acetatos syn e anti do 2-Azido-1-fenil-1-propanol (41)



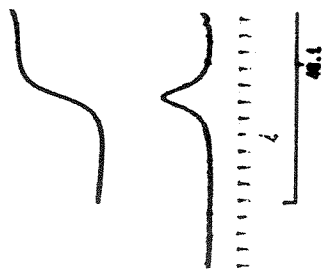
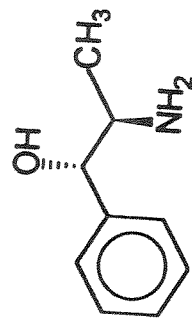
ESPECTRO IV (filme, FTIR) - Mistura de isômeros dos Acetatos *syn* e *anti* do 2-Azido-1-fenil-1-propanol (41)



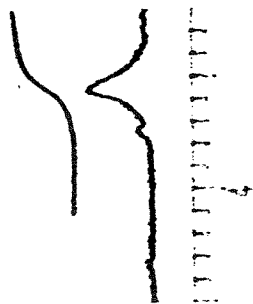
ESPECTRO RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) - Mistura de isômeros *syn*-(1R,2R)-(-)-norpseudoefedrina (42) e *anti*-(1R,2S)-(-)-norefedrina (43)



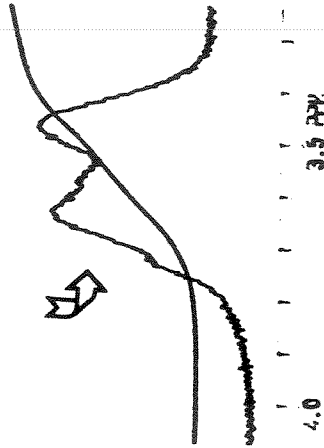
ESPECTRO RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) - Mistura de isômeros *syn*-(1R,2R)-(-)-norpseudoefedrina (42) e *anti*-(1R,2S)-(-)-norefedrina (43) na presença de (+)-Eu(hfc)₃ (1)



A



B



C

A - Sinal do próton situado na posição 2 da molécula de **anti**-(1S,2R)-(+)-norefedrina (43) (amostra padrão), na presença de Eu(hfc)_3 (1)

B - Sinal do próton situado na posição 2 da molécula de **anti**-(1R,2S)-(-)-norefedrina (43) em mistura com o **syn**-(1R,2R)-(-)-norpseudoefedrina (42) na presença de (+)- Eu(hfc)_3 (1)

C - Sinal do próton situado na posição 2 da molécula de **anti**-(1S,2R)-(+)-norefedrina (43) (amostra padrão) que foi adicionada à mistura de isômeros **anti**-(1R,2S)-(-)-norefedrina (43) e **syn**-(1R,2R)-(-)-norpseudoefedrina (42) na presença de (+)- Eu(hfc)_3 (1)

