



***Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Química***

Síntese e Atividade Biológica de Análogos de Fostriecina

Tese de Doutorado

Ilton Barros Daltro de Castro

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo Aloise Pilli

Campinas, 21 de Dezembro de 2010.

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE
QUÍMICA DA UNICAMP**

C279s Castro, Ilton Barros Daltro de.
Síntese e avaliação biológica de análogos de
fostriecina / Ilton Barros Daltro de Castro. -- Campinas,
SP: [s.n], 2010.

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo Aloise Pilli.

Doutorado - Universidade Estadual de Campinas,
Instituto de Química.

1. Síntese de análogos de fostriecina. 2. Alilação
catalítica e assimétrica. 3. Inibidores de fosfatase.
4. Agentes antineoplásicos. I. Pilli, Ronaldo Aloise.
II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
Química. III. Título.

Título em inglês: Synthesis and biological activity of fostriecin analogues

Palavras-chaves em inglês: Fostriecin analogues synthesis, Asymmetric and catalytic allylation, Phosphatase inhibition, Antineoplastic agents

Área de concentração: Química Orgânica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora: Prof. Dr. Ronaldo Aloise Pilli (orientador), Prof. Dr. Paulo Mitsuo Imamura (IQ-UNICAMP), Prof. Dr. Antonio Cláudio Herrera Braga (IQ-UNICAMP), Prof. Dr. Antonio Carlos Bender Burtoloso (IQ-USP-São Carlos), Prof. Dr. Alcindo Aparecido dos Santos (IQ-USP-SP)

Data de defesa: 21/12/2010

“Até mesmo a menor das criaturas pode mudar o rumo do futuro... temos de decidir apenas o que fazer com o tempo que nos é dado.”

J. R. R. Tolkien

“We are the champions - my friends”

Freddie Mercury

“E quando você quer alguma coisa, todo o Universo conspira para que você realize seu desejo.”

Paulo Coelho

Agradecimentos

Ao professor Pilli pela confiança depositada para a realização desse trabalho. Obrigado por compartilhar da sua competência e sabedoria que contribuíram para a minha formação.

Aos professores João Ernesto de Carvalho e Carmen Verrissima Ferreira pelas colaborações e toda atenção desempenhada.

Aos meus amigos de laboratório: Ângelo, Mayrinha, Betinho, Luiz Galáctico, Gustavito, Niltão, Leilinha, Andrea, Cesar, Elaine, Cicreide, Manolo, Roberta, Diogão, Ingrid, Chiquito, Leo Jaime, Alexandre, Vanessa Caixeta, Vanessa Gonçalves, Renan, Lucas, Valquírio, Tiago, Rosimeire, Rodrigo, Gilmar, Caio, Aline, Pedro, Bruno, Marjorie e Carol.

Aos amigos dos laboratórios vizinhos em especial a Júlio Pastre, Angélica, Marlinha, Brunovski, Pati, Giovanni, Fernanda Fera, Tati, Carlinha, Dimas e Sávio.

À minha família por terem compartilhado comigo essa trajetória sempre me apoiando e incentivando.

Um agradecimento muito especial a Van Fraude, Van, Cicreide, Luquinhas e Débora Ozarc que me deram a oportunidade de compartilhar trabalho e aprendizado, constituindo a equipe fraude total, que teve ao final a mais justa agremiação da Carol.

A todos os funcionários do IQ, em especial a minha querida e dedicada técnica Walqueeeeeeeeeeeeeeria, aos técnicos do RMN, Soninha, Anderson e Paula, aos técnicos do massas, Rita e José e à técnica do polarímetro, Claudinha.

À FAPESP pelo apoio financeiro concedido

Súmula Curricular

Ilton Barros Daltro de Castro

1. Formação acadêmica:

- 1.1. 2005 – 2010 Doutorado em Ciências – *UNICAMP* – Campinas/SP.
- 1.2. 2003 – 2005 Mestrado em Química – *UNICAMP* – Campinas/SP.
- 1.3. 2000 – 2002 Bacharel em Química – *UFBA* – Salvador/BA.

2. Participação em Projetos de Pesquisa:

2006-2010 Doutorado (FAPESP) – Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) – SP.

Título: “*Síntese e Atividade Biológica de Análogos de Fostriecina*”

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo Aloise Pilli.

2003-2006 Mestrado (FAPESP) – Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) – SP.

Título: “*Síntese do fragmento C1-C13 da Migrastatina*”

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Dias

2000-2002 Iniciação Científica (CNPq) – Instituto de Química – Universidade Federal da Bahia (UFBA) – BA

Título: “*Estudo Fitoquímico de Dioclea violácea*”

Orientador: Prof. Dr. Jorge Mauricio David

3. Publicação em Periódicos Indexados:

- 3.1. Vendramini-Costa, D. B.; de Castro, I. B. D.; Ruiz, A. L. T. G.; Marquissolo, C.; Pilli, R. A.; Carvalho, J. E. de “*Effect of goniothalamine on the development of Ehrlich solid tumor in mice*”. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2010**, 18, 6742-6747.
- 3.2. de Castro, I. B. D.; Dias, L. C.; Steil, L. J.; Augusto, T. “*A short approach to trisubstituted g-butyrolactones*”. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 213-216

4. Trabalhos Apresentados em Eventos/Congressos (6 últimos)

4.1. DE CASTRO, I. B. D.; PILLI, R. A. “*Estudos Visando a Síntese de Análogos de Fostriecina.*” In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009, Fortaleza-CE, Brazil, 2009.

4.2. DE CASTRO, I. B. D.; LIRA, L. M.; PILLI, R. A. “*Short Formal Synthesis of Fostriecin.*” In: 4th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry, Porto de Galinhas-PE, Brazil, 2008.

4.3. DE CASTRO, I. B. D.; SILVA, J. C. T.; Meirelles, A. M. O.; Francchi Jr., G. C. ; Marques, M. ; Camargo, R. F. ; Nowill, A. E. ; BARATA, L. E. S. “*Antileukemic activity of natural neolignan surinamensin from Virola surinamensis leaves and its synthetic analogues.*” In: 4th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry, Porto de Galinhas-PE, Brazil, 2008.

4.4. PERREIRA, V. C.; DE CASTRO, I. B. D.; PILLI, R. A. “*Asymmetric and Catalytic Synthesis of (R)-Noradrenaline.*” In: 12th Brazilian Meeting on Organic Synthesis, 2007, Itapema-SC, Brazil, 2007.

4.5. SANTOS, V. G.; DE CASTRO, I. B. D.; PILLI, R. A. “*A Simple Route to Blastmycinone Main Core.*” In: 12th Brazilian Meeting on Organic Synthesis, 2007, Itapema-SC, Brazil, 2007.

4.6. DE CASTRO, I. B. D.; PILLI, R. A. “*Studies Toward Synthesis and Biological Activity of Fostriecin Analogues.*” In: 3rd Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry, São Pedro-SP, Brazil, 2006.

5. Atividades Didáticas:

2006-2008 Professor Assistente do Curso de Bacharelado em Química
Disciplinas: Química Orgânica III e Análise Orgânica I.
Instituto Manchester Paulista de Ensino Superior (IMAPES)
Sorocaba – SP

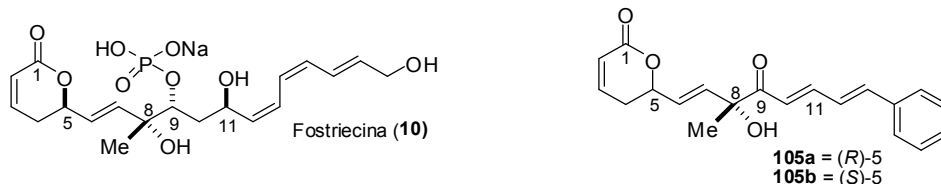
2006-2006 Estagiário do Programa de Estágio à Docência (PED)
Disciplina: Química Orgânica e Inorgânica Experimental
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Campinas - SP

Resumo

Fostriecina (**10**) é um fosfato orgânico natural citotóxico isolado de *Streptomyces pulveraceu* e apresenta potente atividade anticâncer contra células leucêmicas ($IC_{50}=0,46$ mM) e outras linhagens de células tumorais. As propriedades citotóxicas desse composto são atribuídas à inibição seletiva da proteína fosfatase 2A ($IC_{50}=3,2$ nM). A fostriecina havia avançado para estudos clínicos, no entanto os estudos foram suspensos devido à instabilidade do composto, que foi atribuída à porção triênica da sua estrutura. Com base nisso, foi decidido estudar análogos de fostriecina (**105a** e **105b**) que apresentem estabilidade química atrelada a potente atividade biológica.

A estratégia de síntese proposta para a obtenção dos análogos **105a** e **105b** foi orientada por algumas idéias centrais que visavam preservar a integridade do anel di-hidropirano, controlar adequadamente a geometria das ligações duplas presentes na estrutura e a estereoquímica absoluta dos centros estereogênicos, sem comprometer a eficiência da rota sintética. As etapas chave na preparação dos análogos de fostriecina foram: a reação de alilação catalítica e assimétrica de Yamamoto para instalação do centro estereogênico em C5; a reação de di-hidroxilação assimétrica de Sharpless para construção do centro estereogênico em C8 e a reação aldólica para construção da ligação C10 – C11.

Os produtos finais da síntese, bem como os intermediários avançados da síntese, foram submetidos a três ensaios: de atividade antiproliferativa *in vitro* contra 10 linhagens de células tumorais, de inibição da enzima LMWPTP isolada e de viabilidade celular em linhagens que superexpressam a LMWPTP. Três compostos se mostraram bastantes promissores nos ensaios, apresentando inibição superior aos controles positivos e com baixa toxicidade para células saudáveis. Os resultados obtidos sugerem que os compostos induzem morte celular via perturbação das vias de sinalização da enzima LMWPTP.

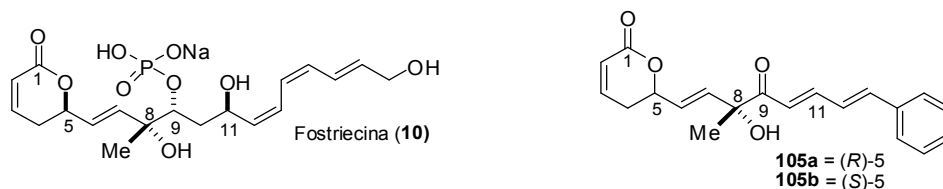


Abstract

Fostriecin (**10**) is a natural cytotoxic organic phosphate isolated from *Streptomyces pulveraceus* which exhibits potent antitumor activity against leukemic cells ($IC_{50}=0,46$ mM), among others. The cytotoxic properties of this compound are presumably linked to the selective inhibition of the phosphatase protein 2A ($IC_{50}=3,2$ nM). Although fostriecin has advanced to clinical studies, these were suspended due to its chemical instability, which was assigned to the trienic moiety of the structure. Therefore it was decided to prepare fostriecin analogues (**105a** and **105b**), which should present chemical stability and potent biological activity.

The synthetic strategy proposed towards the achievement of analogues **105a** and **105b** was guided by a main idea that aimed to preserve the integrity of the dihydropyran ring and to properly control the geometry of the double bonds, as well as the absolute stereochemistry of the stereogenic centers, without compromising the efficiency of the synthetic route. The key steps in the preparation of the fostriecin analogues were: a Yamamoto catalytic and asymmetric allylation reaction to install the stereogenic center in C5; a Sharpless asymmetric dihydroxylation reaction to access the stereogenic center in C8; and an aldol reaction to form the bond between C10-C11.

The target products, as well as advanced synthetic intermediates were submitted to three biological assays: antiproliferative activity *in vitro* against 10 cancer cell lines; LMWPTP isolated enzyme inhibition; and cell viability within cell lines that overexpress the LMWPTP. Three of those compounds showed promising results, exhibiting higher inhibition than the positive controls and with low cytotoxicity to healthy cells. These results suggest that these compounds induct apoptosis via disruption of the LMWPTP enzyme signaling pathways.



Índice

Lista de Esquemas	xii
Lista de Figuras	xiv
Lista de tabelas	xvi
Lista de Espectros	xvii
1. Introdução	1
1.1. Considerações Gerais	1
1.2. A Fostriecina.....	3
1.3. Isolamento e Caracterização	4
1.4. Análise das Sínteses Totais Descritas	6
1.4.1. Síntese total descrita por Boger.....	8
1.4.2. Síntese total descrita por Jacobsen.....	10
1.4.3. Síntese total descrita por Reddy.....	12
1.4.4. Síntese total descrita por Imanishi.....	14
1.4.5. Síntese total descrita por Hatakeyama.....	15
1.4.6. Síntese Total por Shibasaki.....	17
1.4.7. Síntese total descrita por McDonald.....	18
1.4.8. Síntese total descrita por O'Doherty.....	20
1.5. A Família da Fostriecina: Inibidores de Fosfatases	22
2. Justificativa	26
3. Objetivos	29
4. Resultados e Discussão.....	30
4.1. Estudos sintéticos.....	30
4.2. Determinação da configuração absoluta dos produtos.....	57
4.3. Estudos de atividade biológica	62
4.3.1. Atividade Antiproliferativa.....	62
4.3.2. Atividade de Inibição de LMW-PTP	67
5. Conclusões e Considerações finais	74
6. Parte Experimental.....	76
6.1. Reagentes e solventes	76
6.2. Métodos cromatográficos	77
6.3. Métodos espectroscópicos	77
6.4. Compostos preparados	78

Lista de Esquemas

Esquema 1: Produtos de degradação da Fostriecina (10).....	5
Esquema 2: Preparação do fosfato cíclico 18	6
Esquema 3: Preparação dos compostos 19a e 19b	6
Esquema 4: Síntese total da fostriecina (10) descrita por Boger.	10
Esquema 5: Síntese total da fostriecina (10) descrita por Jacobsen.	12
Esquema 6: Síntese total da fostriecina (10) descrita por Reddy.	13
Esquema 7: Síntese total da fostriecina (10) descrita por Imanishi	15
Esquema 8: Síntese total da fostriecina (10) descrita por Hatakeyama.....	16
Esquema 9: Síntese total da fostriecina descrita por Shibasaki.	18
Esquema 10: Síntese total da fostriecina (10) descrita por McDonald.....	19
Esquema 11: Síntese total da fostriecina (10) decrita por O'Doherty.	21
Esquema 12: Retrossíntese dos análogos simplificados de fostriecina 105a e 105b	31
Esquema 13: Preparação do aldeído 112	33
Esquema 14: Mecanismo proposto para conversão de <i>N</i> -metoxi- <i>N</i> -metilamidas em cetonas.	35
Esquema 15: Preparação dos compostos 120 e 107	36
Esquema 16: Mecanismo de clivagem oxidativa de 120 para obtenção do aldeído 107 segundo a metodologia de Lemieux-Johnson.	37
Esquema 17: Preparação dos compostos 108 e 109	38
Esquema 18: Preparação dos compostos 121 e 122	39
Esquema 19: Mecanismo geral para metátese de olefina para fechamento de anel.....	40
Esquema 20: Remoção oxidativa de grupo PMB utilizando DDQ.	41
Esquema 21: Tentativa de preparação do brometo 123 a partir do álcool 122	42
Esquema 22: Síntese do mesilato 124 e tentativa de preparação da fosforana 110	42
Esquema 23: Mecanismo para degradação dos compostos da reação de preparação de 110	43
Esquema 24: Nova análise retrossintética para obtenção dos análogos 105a e 105b	43

Esquema 25: Preparação do aldeído 127 via reação de Wittig com o ilídeo estabilizado 131	44
Esquema 26: Mecanismo proposto para reação HWE.	45
Esquema 27: Preparação do éster 133 através de reação HWE.	45
Esquema 28: Obtenção do aldeído 127 a partir do éster 133	46
Esquema 29: Mecanismo proposto para a oxidação de Swern.	47
Esquema 30: Reação de alilação de Yamamoto para obtenção do álcool homoalílico 128a	49
Esquema 31: Preparação do éster 129a da lactona 130a	50
Esquema 32: Produtos da reação metátese utilizando Grubbs de 2ª geração.....	51
Esquema 33: Produtos da reação de di-hidroxilação do composto 130a	51
Esquema 34: Modelo de Sharpless para determinação da face da dupla ligação.	52
Esquema 35: Obtenção do composto 16 através de clivagem oxidativa do diol 135a	53
Esquema 36: Métodos de oxidação para obtenção da metilcetona 113a	54
Esquema 37: Mecanismo proposto para oxidação de Parikh-Doering.	55
Esquema 38: Preparação do composto 105a	56
Esquema 39: Alilação racêmica do aldeído 127 utilizando brometo de alilmagnésio.....	56
Esquema 40: Preparação dos diastereoisômeros 113a e 113b	56
Esquema 41: Preparação do composto 105b	57
Esquema 42: Preparação do composto 138a	58
Esquema 43: Nova rota sintética para obtenção do diol 135a	59
Esquema 44: Sumário da estratégia sintética implementada para síntese do análogo 105a	74

Lista de Figuras

Figura 1: Estrutura do taxol (1) e do taxotere (2).	1
Figura 2: Estrutura de compostos em fase clínica para tratamento de câncer.	2
Figura 3: Di-hidropira-2-onas com destacadas atividades biológicas: Calistatina A (7), Rubratoxina A (8), Goniotalamina (9) e Fostriecina (10).	3
Figura 4: Estrutura: citostatina (11), foslactomicina A (12), leustroducsina (13) e sultriecina (14).	4
Figura 5: Estratégias para síntese total da Fostriecina.	8
Figura 6: Estruturas das Anguinomicinas C e D (102, 103) e da lactona 104 e os valores de inibição do receptor CRM-1.	27
Figura 7: Análogos simplificados de fostriecina 105a e 105b e (R)-goniotalamina (9).	28
Figura 8: Ligantes usados na mistura AD mix.	32
Figura 9: Mecanismo proposto para reação de osmilação de olefinas utilizando AD mix.	32
Figura 10: Cromatogramas obtido por CG do composto 112, mistura racêmica e opticamente enriquecida. Condições: CP-Chirasil-DEX CB (25m x 0,25 mm; df = 0,25 µm); temperatura/	34
Figura 11: Estruturas dos catalisadores de Grubbs de primeira e segunda geração.	40
Figura 12: Mecanismo proposto para alilação nas condições de Yamamoto.	49
Figura 13: Cromatograma do HPLC preparativo dos compostos 113a e 113b. Coluna Sunfire™ preparativa de sílica OBD™ (19 mm x 100 mm x 5 µm); eluente: hexano/isopropanol/metanol (95:3:2 v/v); fluxo: 17 mL/min.; λ _{max} : 216 nm; detector com arranjo de diodo.	57
Figura 14: Porcentagem de crescimento de células de câncer humano após 48h na presença de diferentes concentrações de (±)-130 e (±)-135.	63
Figura 15: Porcentagem de crescimento de células de câncer humano após 48h na presença de diferentes concentrações de 113a e 113b.	64
Figura 16: Porcentagem de crescimento de células de câncer humano após 48h na presença de diferentes concentrações de 105a e 105b.	65
Figura 17: A) Estrutura 3D da LMWPTP; B) Efeito da LMWPTP na sobrevivência, crescimento e adesão celular. ¹¹²	68
Figura 18: Atividade enzimática de LMWPTP, tratamento sem pré- incubação da enzima com os compostos.	69

Figura 19: Atividade enzimática de LMWPTP, tratamento com pré- incubação da enzima com os compostos por 10 minutos.....	70
Figura 20: Inibição da atividade enzimática da LMWPTP em diferentes concentrações dos compostos (±)-130, (±)-135, 113a , 113b , 105a e 105b	70
Figura 21: Viabilidade celular da célula PC-03 perante tratamento com os compostos (±)-130, (±)-135, 113a , 113b , 105a e 105b nas concentrações de 50 e 100 µM.....	71
Figura 22: Viabilidade celular das células K562 e Lucena perante tratamento com os compostos (±)-130, (±)-135, 113a , 113b , 105a e 105b na concentração de 100 µM.	73

Lista de tabelas

Tabela 1: Resumo das sínteses totais da fostriecina.	21
Tabela 2: Estrutura de produtos naturais inibidores de PP1 e PP2A e os valores de IC ₅₀	24
Tabela 3: Estruturas da Haperforina B1 (100) e do IDDP 101 e os valores de IC ₅₀ para linhagens de células tumorais.	27
Tabela 4: Valores de TGI em $\mu\text{mol.L}^{-1}$ para ($\pm$)- 130 , ($\pm$)- 135 , 113a , 113b , 105a e 105b	66

Lista de Espectros

Espectro de RMN- ¹ H (300 MHz, CDCl ₃): composto 111	80
Espectro de RMN- ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃): composto 111	80
Espectro de RMN- ¹ H (300 MHz, CDCl ₃): composto 117	82
Espectro de RMN- ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃): composto 117	82
Espectro de RMN- ¹ H (300 MHz, CDCl ₃): composto 120	85
Espectro de RMN- ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃): composto 120	85
Espectro de RMN- ¹ H (300 MHz, CDCl ₃): composto 107	86
Espectro de RMN- ¹ H (300 MHz, CDCl ₃): composto 108	88
Espectro de RMN- ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃): composto 108	88
Espectro de RMN- ¹ H (300 MHz, CDCl ₃): composto 120	90
Espectro de RMN- ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃): composto 120	90
Espectro de RMN- ¹ H (300 MHz, CDCl ₃): composto 121	92
Espectro de RMN- ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃): composto 121	92
Espectro de RMN- ¹ H (300 MHz, CDCl ₃): composto 122	94
Espectro de RMN- ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃): composto 122	94
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 133	96
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 133	96
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 134	98
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 134	98
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 127	100
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 127	100
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 128a	102
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 128a	102
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 129a	105
Espectro de RMN- ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃): composto 129a	105
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 130a	107
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 130a	107
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 135a	109
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 135a	109
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 136	111
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 136	111
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 16	113
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 16	113

Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 113a	115
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 113a	115
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 113b	117
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 113b	117
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 105a	119
Espectro de DEPT-135 (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 105a	119
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 105b	121
Espectro de DEPT-135 (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 105b	121
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 139	123
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 139	123
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 140	125
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 140	125
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 141	127
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 141	127
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 142	129
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 142	129
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 143	131
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 143	131
Espectro de RMN- ¹ H (250 MHz, CDCl ₃): composto 144	133
Espectro de RMN- ¹³ C (62,5 MHz, CDCl ₃): composto 144	133

dibenzodiazepínico ECO-4601 (**5**) isolado da bactéria *Micromonospora* sp. e a curcumina (**6**) isolada da planta *Curcuma longa* (Figura 2).⁶

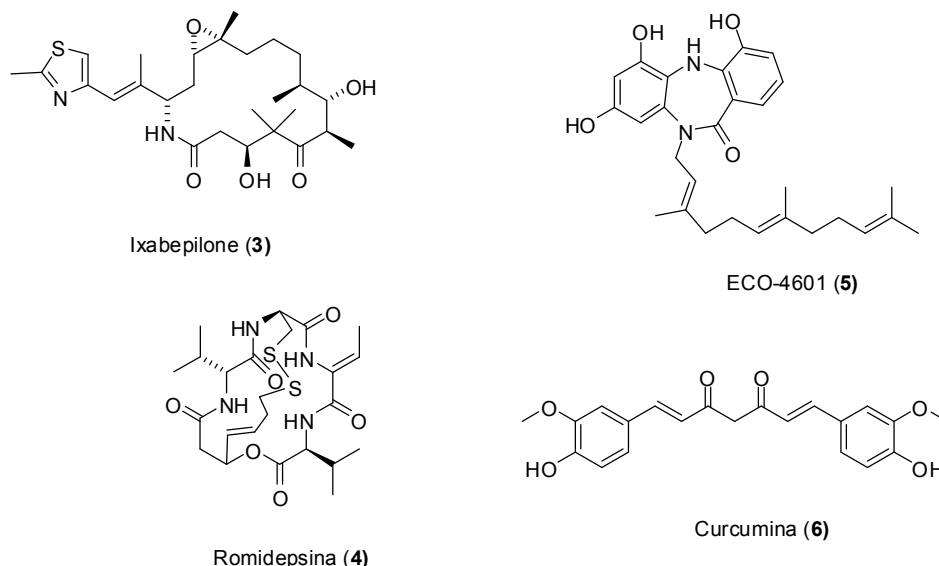


Figura 2: Estrutura de compostos em fase clínica para tratamento de câncer.

Dentre os produtos naturais com destacada atividade biológica podemos apontar as 5,6-di-hidropiran-2-onas.⁷ Como exemplos dessa classe de compostos temos: a calistatina A (**7**)⁸ que apresenta atividade citotóxica; a rubratoxina A (**8**)⁹ supressor de metástases tumorais; a goniotalamina (**9**)¹⁰ que apresenta atividade antiproliferativa e a fostriecina (**10**)¹¹ composto que apresenta potente atividade antitumoral caracterizada pela inibição de proteínas fosfatases (Figura 3).

⁷ GUIA IUPAC para a nomenclatura de compostos orgânicos. Co-autoria de Ana Cristina Fernandes. Lisboa: Lidel, c2002. 190p., il. (Sociedade Portuguesa de Química). ISBN 9727571506 (brohc.).

⁸ Kobayashi, M.; Higuchi, K.; Murakami, N.; Tajima, H.; Aoki, S. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 2859.

⁹ Wada, S.; Usami, I.; Umezawa, Y.; Inoue, H.; Ohba, S.; Someno, T.; Kawada, M.; Ikeda, D. *Cancer Sci.* **2010**, *101*, 743.

¹⁰ a) de Fátima, A.; Kohn, L. K.; de Carvalho, J. E.; Pilli, R. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 622; b) de Fátima, A.; Pilli, R. A. *Arkivoc*, **2003**, 118.

¹¹ Lewy, D. S.; Gauss, C. -M.; Soenen, D. R.; Boger, D. L. *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 2005.

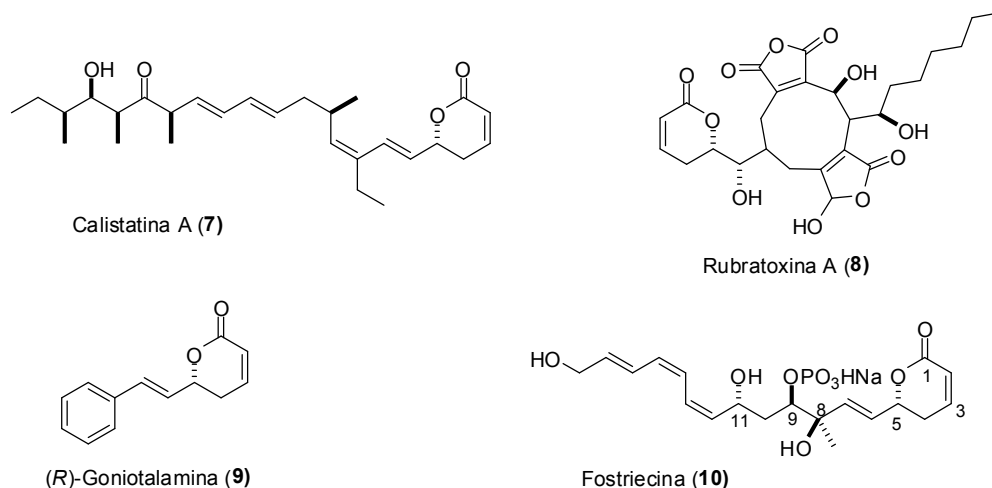


Figura 3: Di-hidropira-2-onas com destacadas atividades biológicas: Calistatina A (7), Rubratoxina A (8), Goniotalamina (9) e Fostriecina (10).

A Fostriecina (10) além de apresentar excelente atividade biológica, possui um esqueleto carbônico desafiador que exige novas reações e elaboradas metodologias sintéticas. E por causa disso, inúmeras abordagens de síntese e avaliação das suas potencialidades biológicas são descritas na literatura e serão discutidas no decorrer do texto.

1.2. A Fostriecina

A Fostriecina (10) é um fosfato orgânico que mostrou atividade antitumoral *in vitro* contra câncer de leucemia, mama, pulmão e ovário e *in vivo* contra leucemias do tipo L 1210 e P 388.¹¹ Foi o primeiro composto contendo fósforo isolado da cultura de *Streptomyces pulveraceus*, da subfamília fostreus.

Outros compostos, com estrutura similar à fostriecina, foram isolados e constituem a chamada família da fostriecina. Dentre eles tem-se: a citostatina (11), a foslactomicina A (12) e a leustroducsina (13), além da sultriecina (14) que se difere das demais pelo fato de apresentar um grupo sulfato ao invés do grupo fosfato em C9 (Figura 4).¹²

¹² Miyashita, K.; Ikejiri, M.; Tsunemi, T.; Matsumoto, A.; Imanishi, T. *J. Synth. Org. Chem. Jpn.* **2007**, 65, 874.

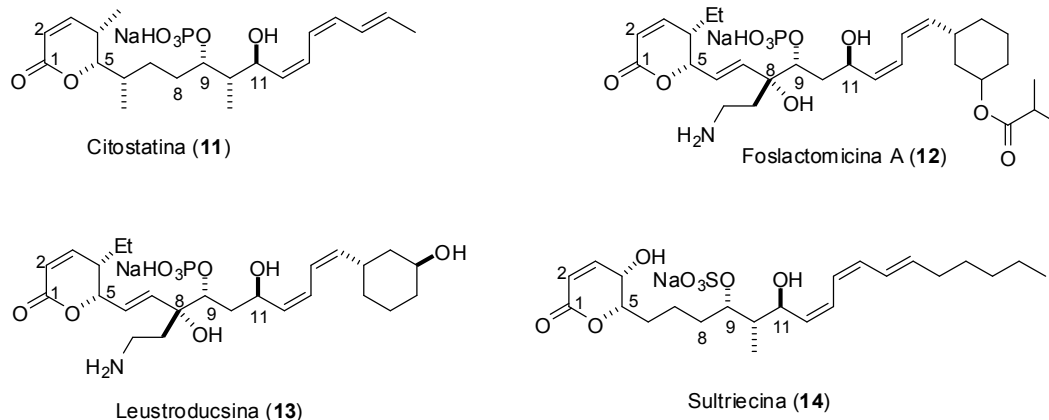


Figura 4: Estrutura: citostatina (11), foslactomicina A (12), leustroducsina (13) e sultriecina (14).

Um dos fatores bioquímicos mais característicos desses compostos, principalmente da fostriecina, é a inibição seletiva da proteína fosfatase Ser/Thr 2A (PP2A), que será discutido mais adiante.

1.3. Isolamento e Caracterização

A Fostriecina (10) foi primeiramente isolada a partir da fermentação dos extratos de uma subespécie de *Streptomyces pulveraceus*, em 1983 por pesquisadores da companhia farmacêutica Warner-Lambert/Parke-Davis nos Estados Unidos.¹³ Inicialmente o organismo produziu níveis baixos do composto ($\sim 30 \mu\text{g.mL}^{-1}$), mas após fermentação o rendimento subiu para $400 \mu\text{g.mL}^{-1}$.^{13b}

A estrutura da Fostriecina (10) foi determinada como sendo hidrogenofosfato de (1*E*,3*R*,4*R*,6*R*,7*Z*,9*Z*,11*E*)-3,6,13-tri-hidroxi-3-metil-1-((*R*)-6-oxo-3,6-di-hidro-2H-piran-2-il) trideca-1,7,9,11-tetraen-4-ila de sódio por FAB- MS, RMN de ¹H, RMN de ¹³C, DEPT, ROESY, NOESY, I.V., U.V.^{14a-c}

O espectro de FAB-MS sugeriu uma massa molecular de 452 Da que, juntamente com análise elementar e informações dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C, conduziram a fórmula molecular de C₁₉H₂₆O₉PNa. O espectro de IV apresenta

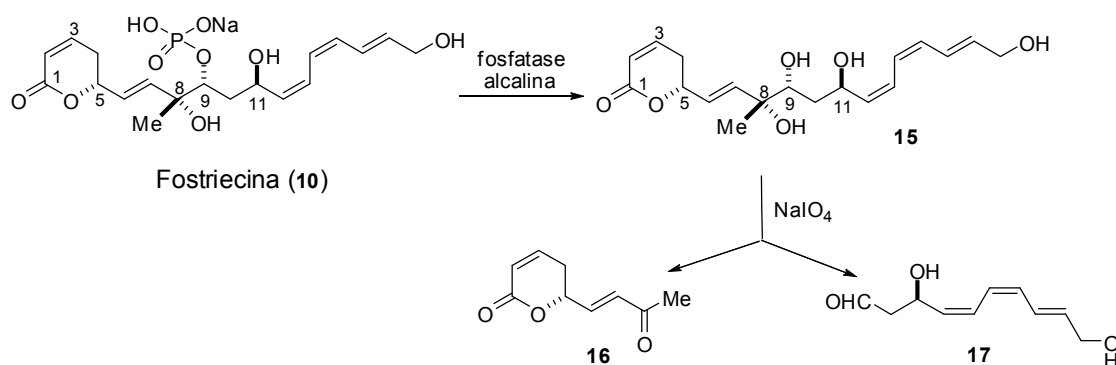
¹³ a) Tunac, J. B.; Graham, B. D.; Dobson, W. E. *J. Antibiot.* **1983**, 36, 1595; b) Stampwala, S. S.; Bunge, R. H.; Hurley, T. R.; Willmer, N. E.; Brankiewicz, A. J.; Steinman, C. E.; Smitka, T. A.; French, J. C. *J. Antibiot.* **1983**, 36, 1601.

¹⁴ a) A numeração segue os critérios de nomenclatura oficial da IUPAC; b) Hokanson, G. C.; French, J. C. *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 462; c) Boger, D. L.; Hikota, M.; Lewis, B. M. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 1748.

uma banda de absorção proeminente em 1710 cm^{-1} referente ao estiramento da carboxila da δ -lactona α,β -insaturada.

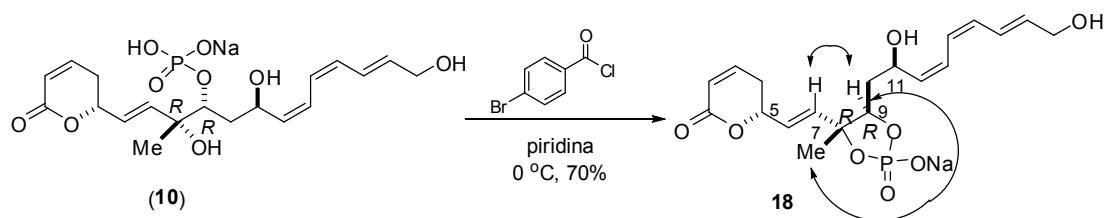
O espectro de RMN de ^{13}C confirmou os 19 sinais de carbono; três sinais, no espectro de ^{13}C desacoplado de hidrogênio, em 80,5; 77,9 e 41,5 ppm apareceram como dupletos com constantes de acoplamento pequenas de 5,6; 2,9 e 3,0 Hz, referente aos acoplamentos C9-P, C8-P e C10-P, respectivamente.

Pela análise do espectro de RMN de ^1H foi possível determinar a porção 5,6-di-hidropiran-2-ona, que foi corroborado após obtenção do produto de degradação **16**, uma vez que os dados espectroscópicos deste composto já estavam descritos (Esquema 1). A obtenção de **16** também possibilitou a determinação da configuração absoluta do centro em C5. Dados de RMN de ^1H do composto **10** em conjunto com os dados de RMN e FAB-MS do composto **17** contribuíram para atribuição da porção triênica presente no produto natural (Esquema 1).



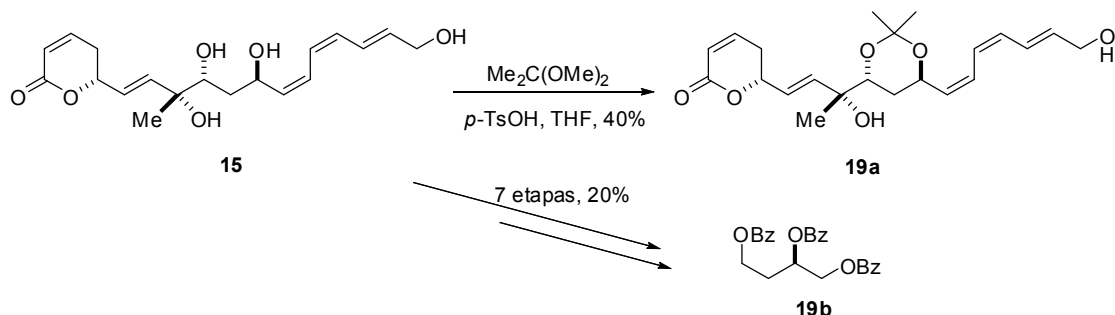
Esquema 1: Produtos de degradação da Fostriecina (**10**).

As estereoquímicas relativas e absolutas de C8, C9 e C11 somente foram elucidadas em 1997 por Boger e colaboradores^{14c} quando, inicialmente, converteu-se o produto natural **10** no fosfato cíclico **18** e por análise de RMN ROESY2D 1H-1H, determinou-se a relação 1,2-*sin* entre C8 e C9 (Esquema 2).



Esquema 2: Preparação do fosfato cíclico **18**.

A estereoquímica relativa *anti* entre C9 e C11 foi confirmada pela análise dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C do acetônídeo **19a**, utilizando o método de Richnovsky¹⁵ (Esquema 3). E por fim, a configuração absoluta de C11 foi atribuída após obtenção do tribenzoato **19b**, cujos dados foram descritos anteriormente (Esquema 3).



Esquema 3: Preparação dos compostos **19a** e **19b**.

1.4. Análise das Sínteses Totais Descritas

Até o presente momento oito sínteses totais da fostriecina foram descritas na literatura, sendo que em 2001 foram publicadas as sínteses desenvolvidas por Boger¹⁶ (primeira síntese total) e Jacobsen¹⁷; em 2003 foram relatadas mais três sínteses totais por Reddy¹⁸, Imanishi¹⁹ e Hatakeyama²⁰; em 2005 Shibasaki²¹

¹⁵ Richnovsky, S. D.; Skaltitzky, D. J. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 945.

¹⁶ Boger, D. L.; Ichikawa, S.; Zhong, W. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 4161.

¹⁷ Chavez, D. E.; Jacobsen, E. N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 3667.

¹⁸ Reddy, Y. K.; Falck, J. R. *Org. Lett.* **2002**, 4, 969.

¹⁹ Miyashita, K.; Ikejiri, M.; Kawasaki, H.; Maemura, S.; Imanishi, T. *Chem. Comm.* **2002**, 742.

²⁰ Esumi, T.; Okamoto, N.; Hatakeyama, S. *Chem. Comm.* **2002**, 3042.

descreveu sua síntese da fostriecina e, após quatro anos, McDonald²² publicou uma nova síntese dessa molécula. Por fim, O'Doherty²³ publicou uma nova síntese total para o composto em evidência.

Dentre todas as sínteses, a proposta por McDonald possui a rota mais curta, com 16 etapas e 2,4% de rendimento global e a síntese descrita por Hatakeyama possui mais alto rendimento global de 3,6% em 20 etapas.

A fostriecina apresenta quatro centros estereogênicos e vários sítios passíveis para desconexão retrosintética (Figura 5). A obtenção da dupla ligação *E* C6 – C7 envolveu reação de Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) nas sínteses de Boger, Imanishi e O'Doherty; reação de Wittig para a síntese de Falck; protocolo de Wipf para a síntese de Jacobsen; acoplamento de Negishi para a síntese de McDonald e reação de Heck para a síntese de Hatakeyama. Para a construção do trieno a maioria dos autores utilizaram acoplamento mediado por Pd; para formação da ligação C13 – C14, Jacobsen, Imanishi, Hatakeyama e Shibasaki utilizaram reação de Stille, já Falck, McDonald e O'Doherty utilizaram reação de Suzuki.

Para construção dos centros em C8 e C9, Falck, Imanishi, Hatakeyama, McDonald e O'Doherty utilizaram di-hidroxilação assimétrica de Sharpless e Jacobsen e Shibasaki instalaram o centro estereogênico em C11 via redução de Noyori (Figura 5).

Todas as oito sínteses totais serão discutidas com mais detalhes adiante e uma comparação entre seus rendimento e eficiência também será apresentada.

²¹ Maki, K.; Motoki, R.; Fujii, K.; Kanai, M.; Kobayashi, T.; Tamura, S.; Shibasaki, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17111.

²² Robles, O.; McDonald, F. E. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 5498.

²³ Gao, D.; O'Doherty, G. A. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3752.

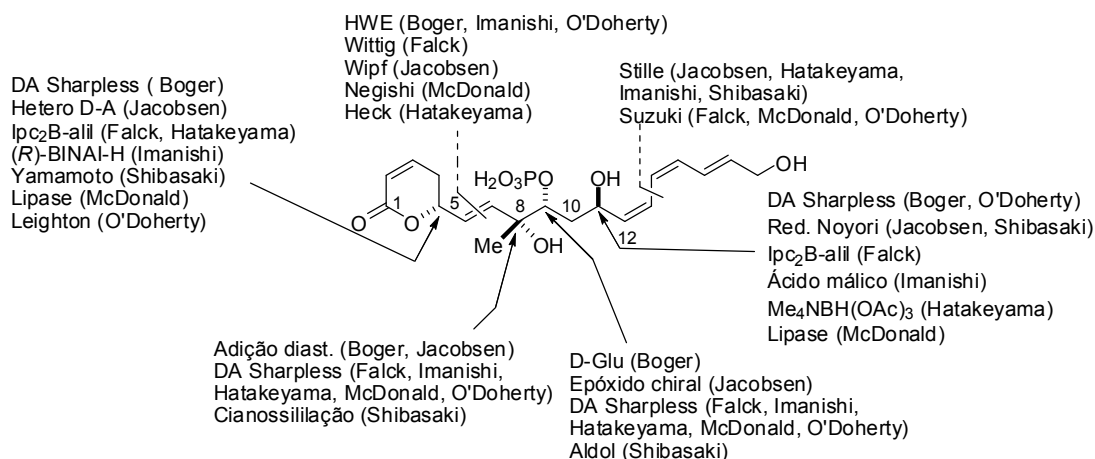


Figura 5: Estratégias para síntese total da Fostriecina.

1.4.1. Síntese total descrita por Boger.¹⁶

A primeira síntese da fostriecina (**10**) foi descrita na literatura em 2001 por Boger e colaboradores (Esquema 4). Os autores utilizaram como etapa chave da síntese o acoplamento de HWE entre os fragmentos **21** e **22** para formação da *E*-olefina entre C6 e C7.

A síntese do fragmento **21** foi feita após várias etapas a partir do ácido *D*-glutâmico para fornecer inicialmente o composto **23**. Di-hidroxilação catalítica assimétrica de Sharpless²⁴ do composto **23** conduziu a formação do grupo hidroxila com a estereoquímica desejada em C11 em excelente rendimento e diastereosseletividade >10:1. Após proteção, o lactol **24** juntamente com o fosfonato de Still-Genari²⁵ **25** forneceram o éster α,β -insaturado **26** através de reação HWE com excelente seletividade (*Z:E* = 29:1). O éster **26** foi convertido no respectivo aldeído, que por sua vez, através de homologação de Corey-Fuchs²⁶ e desbromação *E*-seletiva com $\text{Bu}_3\text{SnH-Pd}(\text{PPh}_3)_4$ ²⁷ conduziram ao brometo vinílico **27**, que através de acoplamento de Stille²⁸ com a *E*-alquenil estanana **28** conduziram ao *Z,Z,E*-trieno **20** com alta estereosseletividade. Remoção do grupo

²⁴ Becker, H.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1996**, 35, 448.

²⁵ Still, W. C.; Gennari, C. *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 4405.

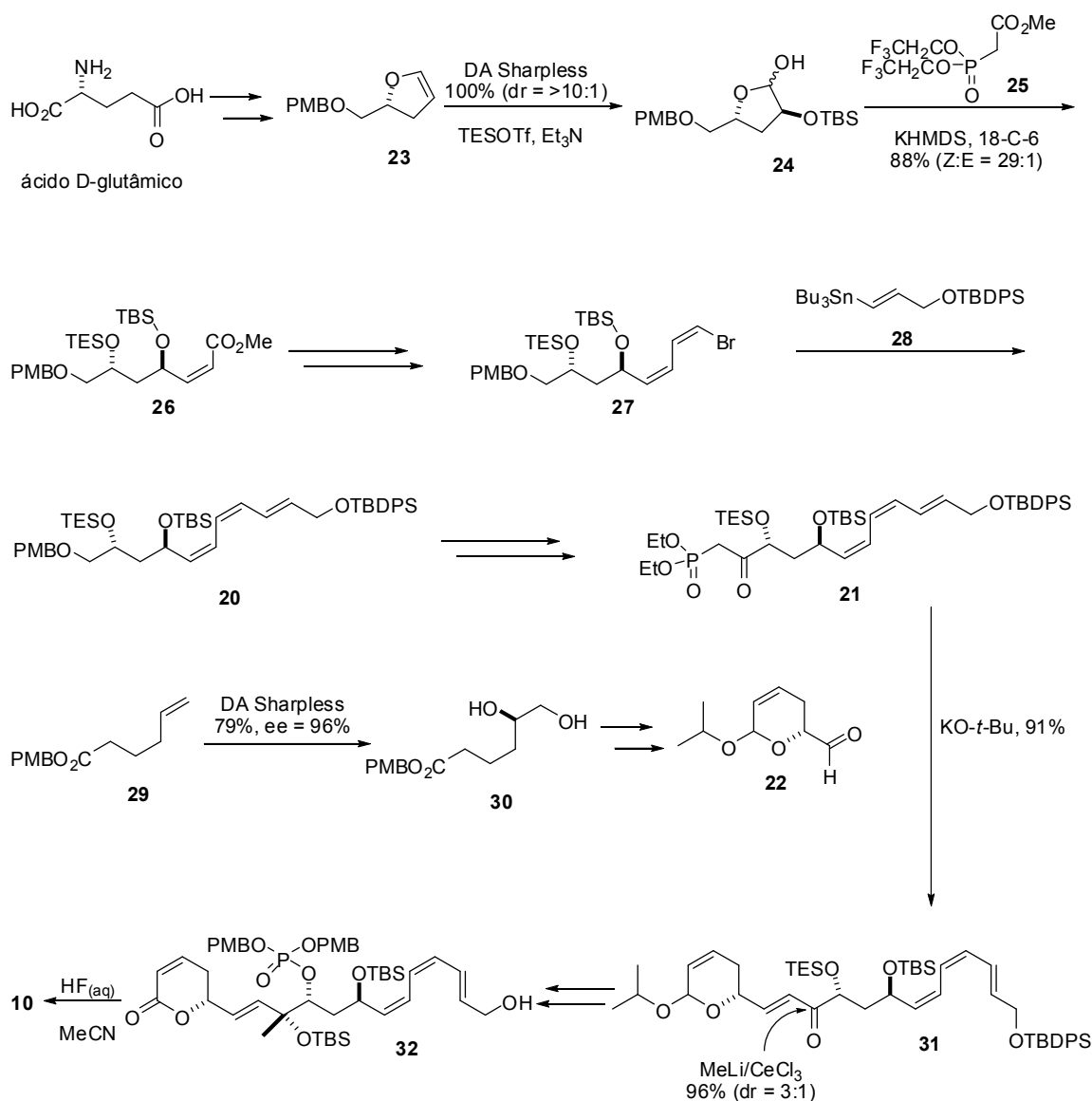
²⁶ E. J. Corey, E. J.; Fuchs, P. L. *Tetrahedron Lett.*, **1972**, 3769.

²⁷ Uenishi, J.; Kawahama, R.; Yonemitsu, O.; Tsuji, J. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 8965.

²⁸ Stille, J. K.; Groh, B. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 813.

de proteção PMB, seguida de oxidação e adição de fosfonocarbânion de lítio e posterior oxidação com periodinana de Dess-Martin forneceu o fosfonato chave **21**. Para realização da reação chave de HWE, sintetizou-se o aldeído **22**, que foi obtido a partir da di-hidroxilação assimétrica catalítica de Sharpless do composto **29**, no qual forneceu o diol **30**, promovendo a formação do centro estereogênico em C5 com 90 % de excesso enantiomérico (ee). Uma vez obtido os dois fragmentos chave, foi realizada a reação HWE utilizando *ter*-butóxido de potássio como base para fornecer a enona **31** desejada em 91 % de rendimento. Metilação controlada pelo modelo de Felkin-Ahn²⁹ conduziu ao produto desejado em 96% de rendimento e diastereosseletividade de 3:1. Através de reação de proteção, desproteção e introdução do grupo fosfato obteve-se o composto **32**, que, por meio de reação de remoção do grupo PMB, seguida de desproteção dos grupos silila, conduziu à fostriecina (**10**). A síntese descrita por Boger e colaboradores envolveu 25 etapas e rendimento global de 2,2%, a partir do ácido D-glutâmico (Esquema 4).

²⁹ Para uma revisão sobre modelos de adição a carbonila: Leonardo José Steil. Tese de doutorado: *Adição de Aliiltricloroestananos quirais a Aldeídos Quirais. Síntese Total da (+)-Prelactona B* – IQ – UNICAMP, **2006**. Orientador: Luiz Carlos Dias.



Esquema 4: Síntese total da fostriecina (**10**) descrita por Boger.

1.4.2. Síntese total descrita por Jacobsen.¹⁷

Jacobsen e colaboradores publicaram a síntese total da fostriecina no mesmo ano que Boger (Esquema 5). Essa síntese teve como etapas chave três reações catalíticas enantiosseletivas para construção do iodeto **33** que foi acoplado a *E,Z*-dienil estanana **34** através de acoplamento de Stille.

Baseado nisso a síntese iniciou-se com uma reação hetero-Diels-Alder catalítica enantiosseletiva entre o dieno **35** e o inal **36**, utilizando 3 mol% do

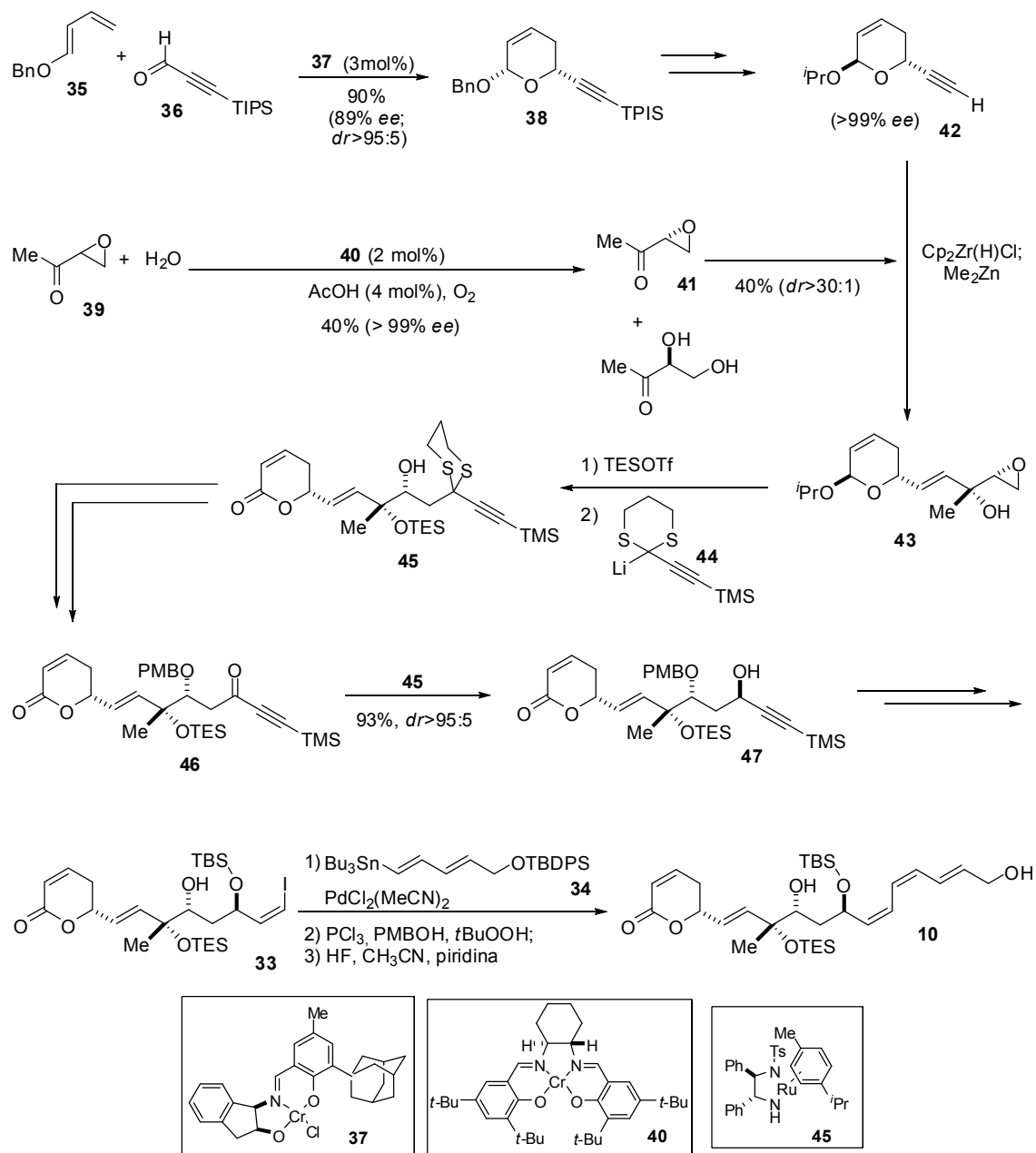
catalisador **37**, desenvolvido pelo próprio grupo³⁰. O produto **38** foi obtido em 90% de rendimento com 89% de ee e *dr* >95:5. Em paralelo a isso, a epoxicetona **41** foi obtida através de resolução cinética hidrolítica do racemato **39** catalisada por **40**³¹ em 40% de rendimento e ee >99%.

Para se realizar o acoplamento entre os dois fragmentos, fez-se necessário, inicialmente, a conversão do pirano **38** no composto **42**. Em seguida, via protocolo de Wipf, o alquino **32** foi convertido no respectivo vinilzinco que após tratamento com a epoxicetona **41**, conduziu a formação do fragmento **43** e, concomitantemente, instalação do grupo hidroxila terciário em C8 com seletividade >30:1. Proteção da hidroxila terciária do composto **43** com TESOTf, seguida de abertura do epóxido com o ânion de lítio **44**, forneceu a ditiada **45**. Proteção da hidroxila secundária como grupo PMB, seguida de remoção da ditiana forneceu a cetona **46** que através de redução de Noyori³², utilizando o catalisador **45**, conduziu a formação do álcool propargílico **47** com seletividade para C11 >25:1. Proteção da hidroxila em C11, iododessililação, remoção do grupo PMB e redução *cis* do acetileno usando di-imida, promoveu a formação do iodeto **33**, que através de acoplamento de Stille com a *Z,E*-estanana **34**, seguido de introdução do grupo fosfato em C9 e desproteção forneceu a fostriecina (**10**). A síntese foi realizada em 17 etapas e rendimento global de 1,4%.

³⁰ Dossetter, A. G.; Jamison, T. F.; Jacobsen, E. N. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, 38, 2398.

³¹ Tokunaga, M.; Larrow, J. F.; Kakiuchi, F.; Jacobsen, E. N. *Science* **1997**, 277, 936.

³² Matsumura, K.; Hashiguchi, S.; Ikariya, T.; Noyori, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 8738.



Esquema 5: Síntese total da fostriecina (**10**) descrita por Jacobsen.

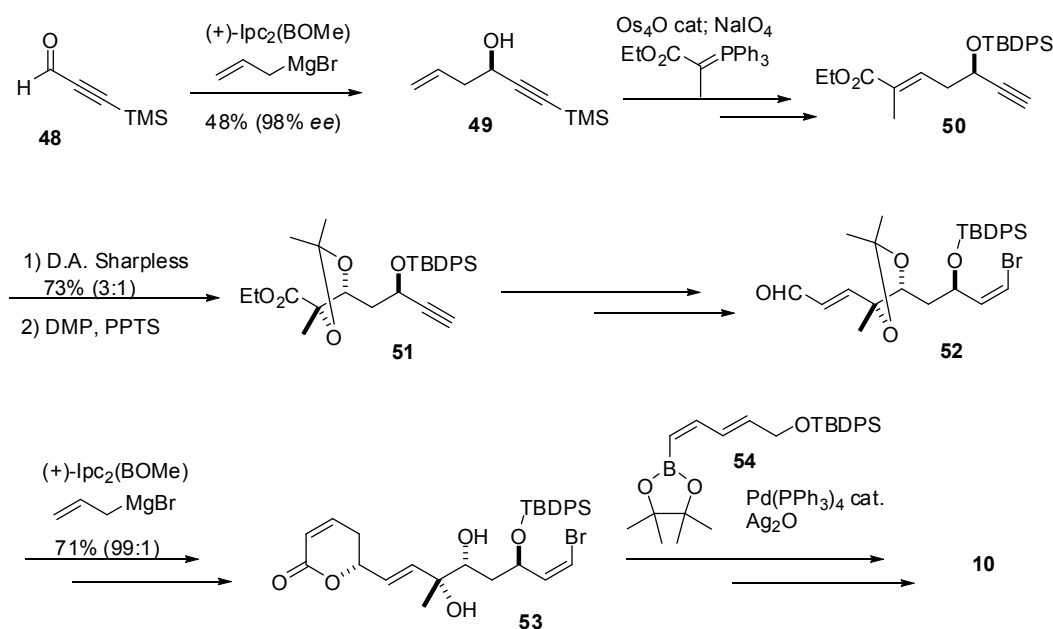
1.4.3. Síntese total descrita por Reddy.¹⁸

A síntese total da fostriecina desenvolvida por Reddy teve como etapas-chave a alilação assimétrica de Brown³³, utilizando alildi-isopinocanfenilborana,

³³ Brown, H. C.; Jadhav, P. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 2092.

dos aldeídos **48** e **52** para construção dos centros em C11 e C5, respectivamente, em bom rendimento (Esquema 6).

Os centros em C8 e C9 foram construídos em uma única etapa via di-hidroxilação assimétrica catalítica de Sharpless do éster *E*- α,β -insaturado **50**, usando AD-mix β , fornecendo o composto **51** após proteção do diol sob a forma de acetonídeo. Em seguida a lactona α,β -insaturada **53** foi construída através de reação de metátese de olefinas.³⁴ A síntese da fostriecina foi finalizada por meio do acoplamento de Suzuki do brometo vinílico **53** com o boronato vinílico **54** na presença de Ag_2O ,³⁵ seguido de formação do fosfato de trimetilsililetila e dessililação global usando HF-piridina.³⁶ A síntese descrita por Reddy se utiliza de reações clássicas e apesar de parecer curta, algumas pequenas transformações de grupos funcionais deixam a síntese um pouco mais longa com 19 etapas e um rendimento global de 1,1%.



Esquema 6: Síntese total da fostriecina (**10**) descrita por Reddy.

³⁴ Grubbs, R. H.; Chang, S. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4413.

³⁵ Miyaura, N.; Suzuki, A. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457.

³⁶ Para uma revisão sobre grupos de proteção de silício: a) Crouch, R. D. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 5833

1.4.4. Síntese total descrita por Imanishi.¹⁹

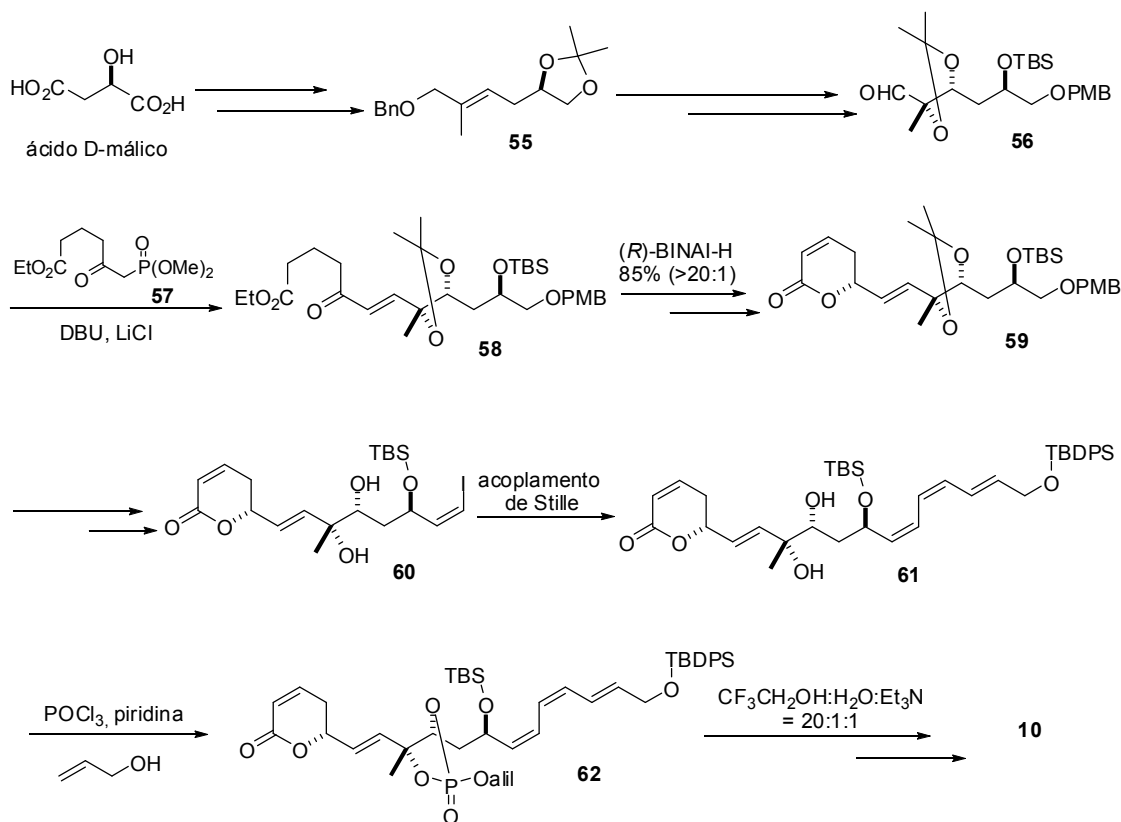
A síntese descrita por Imanishi e colaboradores teve como material de partida o ácido D-málico, cujo centro estereogênico corresponde a C11 no produto final (Esquema 7).

Redução das carboxilas do ácido D-málico, seguida da formação cinética de acetonídeo, oxidação, olefinação de Wittig, redução e proteção forneceram o composto **55** que, após várias transformações, conduziu ao aldeído **56**. Vale ressaltar que a reação de di-hidroxilação assimétrica de Sharpless utilizada no substrato **55** teve maior seletividade que a relatada na síntese de Reddy para transformar **50** em **51** (Esquema 6).

O composto **58** foi obtido através de um acoplamento HWE entre o aldeído **56** e o fosfonato **57**, utilizando as condições de Masamune-Roush.³⁷ Em seguida, redução da carbonila cetônica do composto **58**, utilizando (*R*)-BINOL-H³⁸, conduziu à formação da lactona **59** com seletividade >20:1, após ciclização e instalação da dupla ligação em rendimento de 85%. Remoção do grupo PMB, seguida de oxidação e homologação de Wittig com Ph₃PCHI forneceu o iodeto vinílico **60** em razão diastereosseletiva *Z/E* de 4:1. Acoplamento de Stille entre **60** e a vinilestanana **34** sob as mesmas condições usadas por Jacobsen (Esquema 5) conduziu ao diol **61**. A síntese foi finalizada através de reação de fosforilação, clivagem hidrolítica regioseletiva e desproteção global, num rendimento global de 0,5% e 24 etapas a partir do ácido *D*-málico.

³⁷ Blanchette, M. A.; Choy, W.; Davis, A. P.; Essinfeld, S.; Masamune, W. R.; Roush, W. R.; Sakai, T. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 218.

³⁸ Noyori, R.; Tamino, I.; Tanimoto, Y.; Yamada, M.; Nishizawa, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 6709.



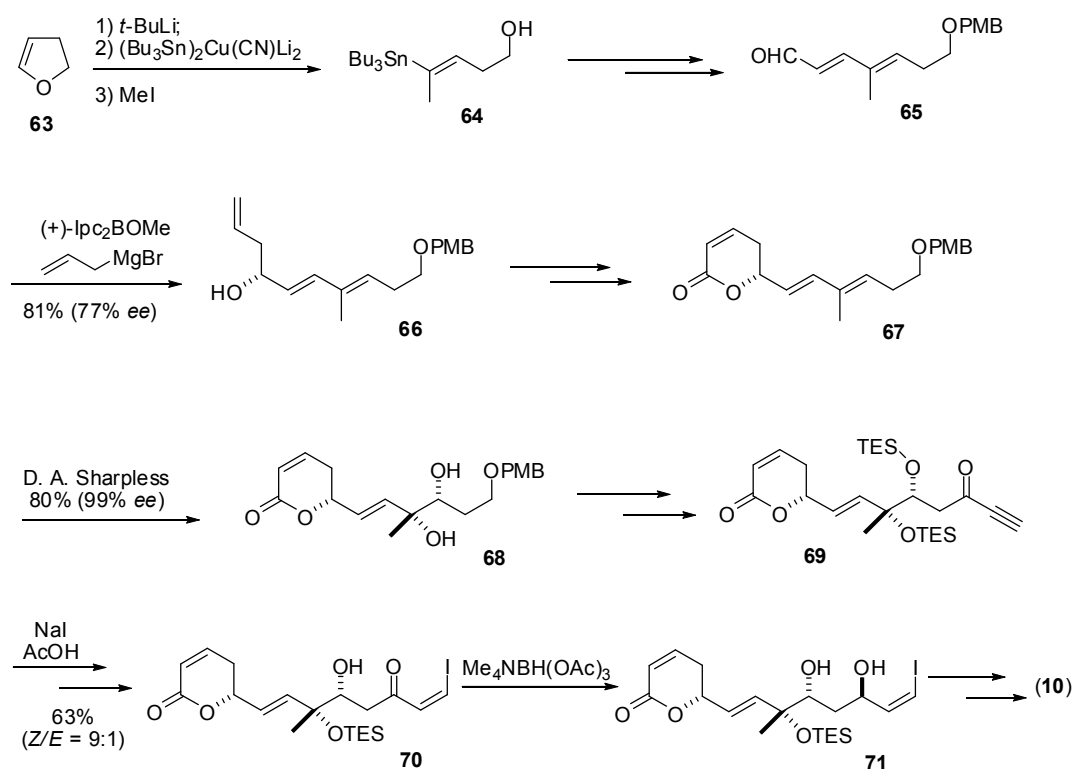
Esquema 7: Síntese total da fostriecina (**10**) descrita por Imanishi.

1.4.5. Síntese total descrita por Hatakeyama.²⁰

A síntese total proposta por Hatakeyama iniciou-se através da formação da dupla ligação *E* entre C8 e C9 de acordo com o procedimento de Aldisson³⁹ (Esquema 8). Migração intramolecular do cuprato de tributilestanho, gerado a partir do di-hidrofurano **63**, seguido de intercepção do cuprato vinílico e reação com iodeto de metila, produziu a vinilestanana **64** em excelente seletividade *E*. Reação de Heck promoveu homologação da cadeia e posterior formação do aldeído **65**. Alilação assimétrica de Brown foi usada para fornecer **66** em 81% de rendimento e 77% de *ee*. Subsequente acrililação e metátese de olefina, utilizando catalisador de Grubbs, forneceu a lactona **67**, que através di-hidroxilação assimétrica de Sharpless conduziu ao produto **68** enantiomericamente puro.

³⁹ Fargeas, V.; Ménez, P. L.; Berque, I.; Aldisson, J.; Panctazi, A. *Tetrahedron* **1996**, 52, 6613.

Após conversão de **68** para a cetona acetilênica **69**, via sequência de reações, uma adição conjugada de NaI na presença de 1 equivalente de AcOH em acetona conduziu ao iodeto vinílico **70**. Redução seletiva nas condições propostas por Evans⁴⁰ forneceu o diol *anti* **71** que, através de acoplamento de Stille com a vinilestanana **34**, seguido de reações de fosforilação e desproteção conduziu ao produto desejado em 3,6% de rendimento global e 20 etapas a partir do di-hidrofurano **63**.



Esquema 8: Síntese total da fostriecina (**10**) descrita por Hatakeyama.

⁴⁰ Evans, D. A.; Chapman, T.; Carreira, E. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 3560.

1.4.6. Síntese Total por Shibasaki.²¹

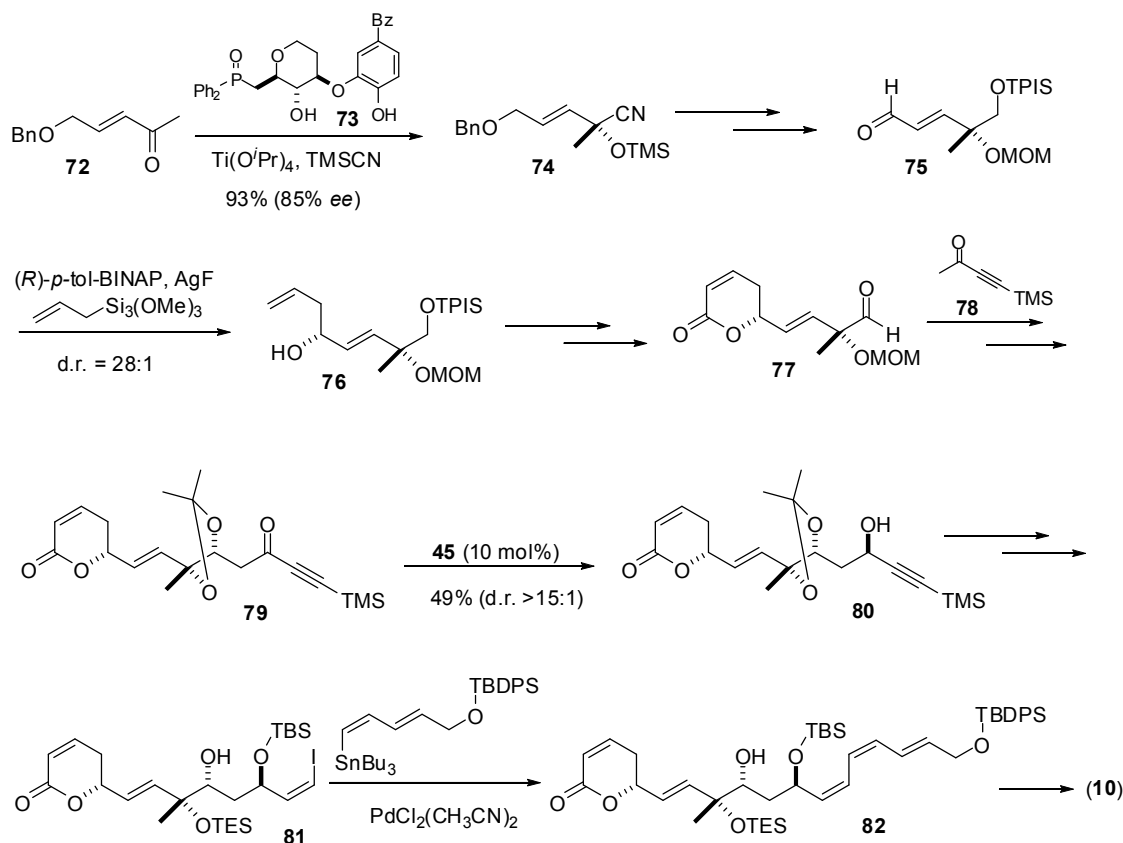
A síntese total proposta por Shibasaki e colaboradores está fundamentada em reações catalíticas assimétricas para formação dos quatro estereocentros presentes na molécula (Esquema 9).

Cianossililação catalítica enantiosseletiva⁴¹ de **72**, usando o ligante **73**, conduziu ao produto **74** em 93% de rendimento e 85% de ee. O aldeído enantiomericamente puro **75** foi obtido em 10 etapas incluindo recristalização a partir de **74**. Em seguida, este mesmo aldeído foi convertido no álcool homoalílico **76** por meio de alilação catalítica assimétrica nas condições propostas por Yamamoto.⁴² Este, por sua vez, forneceu a lactona **77** através de reações de acrililação e metátese de olefinas. Reação aldólica catalítica e assimétrica entre o aldeído **77** e a alquinilcetona **78**, utilizando (S)-LLB⁴³ como catalisador, forneceu o aduto de aldol em rendimento e diastereosseletividade moderada (65% e *dr* = 3,6:1) e após algumas manipulações de grupos de proteção conduziu ao composto **79**. Redução de Noyori da cetona **79** e subseqüentes transformações químicas conduziram à formação do iodeto **81**. Acoplamento de Stille entre o iodeto **81** e a estanana **34** (Esquema 5), seguido de fosforilação, hidrólise e remoção global dos protetores de silício, conduziu à formação do produto final **10** (Esquema 9). A síntese foi completada em 23 etapas e 0,8% de rendimento global a partir do composto **72**.

⁴¹ a) Y. Hamashima, Y.; Kanai, M.; Shibasaki, M. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 691; b) Y. Hamashima, Y.; Kanai, M.; Shibasaki, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 7412.

⁴² Yanagisawa, A.; Kageyama, H.; Nakatsuka, Y.; Asakawa, K.; Matsumoto, Y.; Yamamoto, H. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, 38, 3701.

⁴³ a) Yoshikawa, N.; Yamada, Y. M. A.; Das, J.; Sasai, H.; Shibasaki, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 4168; b) Yamada, Y. M. A.; Yoshikawa, N.; Sasai, H.; Shibasaki, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, 36, 1871.



Esquema 9: Síntese total da fostriecina descrita por Shibasaki.

1.4.7. Síntese total descrita por McDonald.²²

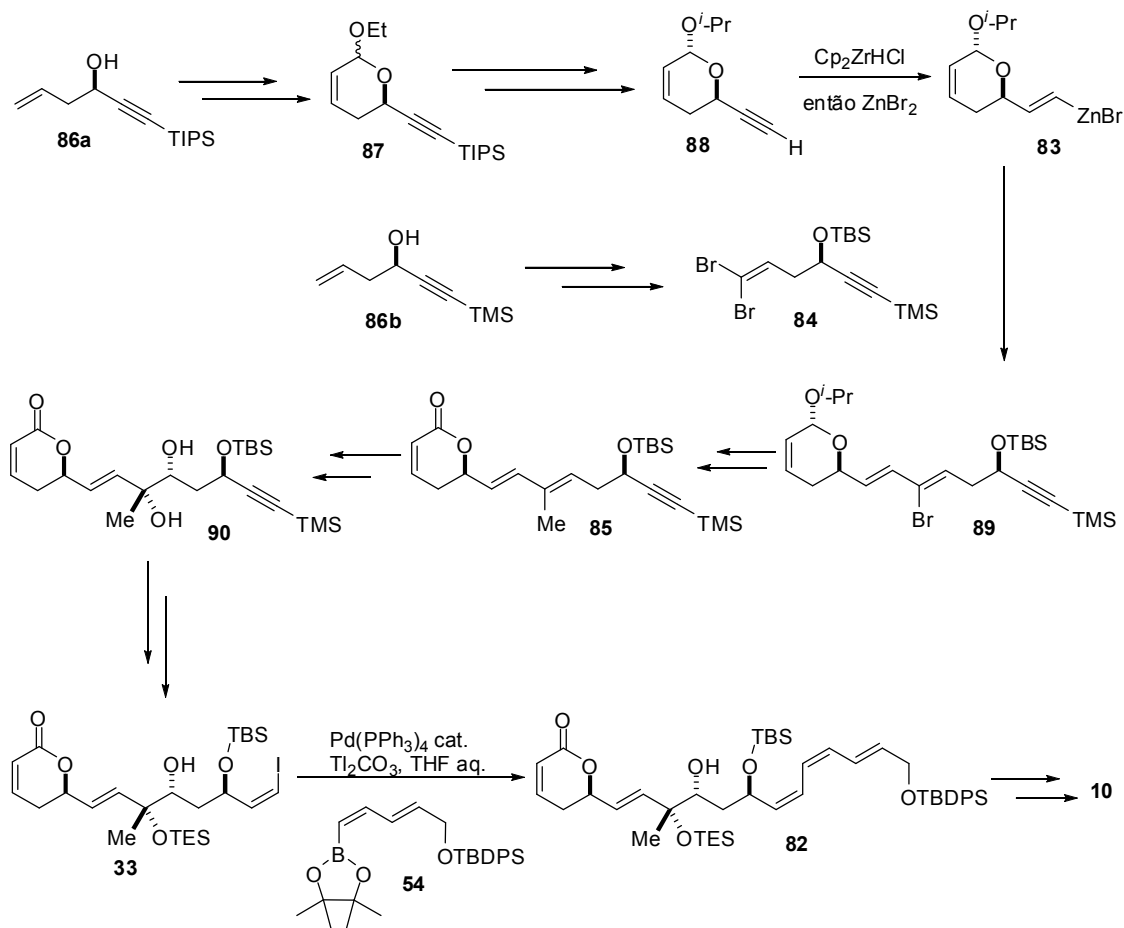
A síntese convergente proposta por McDonald e colaboradores está baseada principalmente nos acoplamentos cruzados seletivo entre o alquenilzinco **83** e o dibrometo vinílico geminal **84** e entre o iodeto vinílico **33** e o boronato **54**, além da di-hidroxilação regioseletiva do dieno **85** (Esquema 10).

A preparação do alquenilzinco **83** teve início pela esterificação do álcool propargílico **86a**⁴⁴ que, após reação de metátese de olefinas, produziu o lactol **87**. Reação com PPTS e *i*-PrOH forneceu o produto desejado **88**. Hidrozirconação regio- e estereosseletiva, seguida de transmetalização com brometo de zinco, promoveu a formação do composto **83** que, através de acoplamento de Negishi⁴⁵

⁴⁴ (a) Langille, N. F.; Panek, J. S. *Org. Lett.* **2004**, 6, 3203; (b) Robles, O.; McDonald, F. E. *Org. Lett.* **2008**, 10, 1811.

⁴⁵ Zeng, X.; Qian, M.; Hu, Q.; Negishi, E.-I. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, 43, 2259.

com a olefina **84**, conduziu ao dieno **89**. Catálise por paládio promoveu a instalação da metila em C8 e formação do composto **85** que, através de reação de di-hidroxilação assimétrica de Sharpless utilizando DHQD-4MEQ,⁴⁶ forneceu o diol **90** como produto principal. Proteção regioseletiva da hidroxila em C8 e posterior transformação do vinilsilano em um viniliodeto conduziram à formação do composto **33**, já obtido na síntese descrita por Jacobsen. No entanto, os autores deste trabalho utilizaram o acoplamento de Suzuki para fornecer o composto **82** e este, por sua vez, conduziu à fostriecina (**10**) (Esquema 10). A síntese total descrita por McDonald é uma das mais eficientes, apresenta 16 etapas e rendimento global de 2,4%.



Esquema 10: Síntese total da fostriecina (**10**) descrita por McDonald.

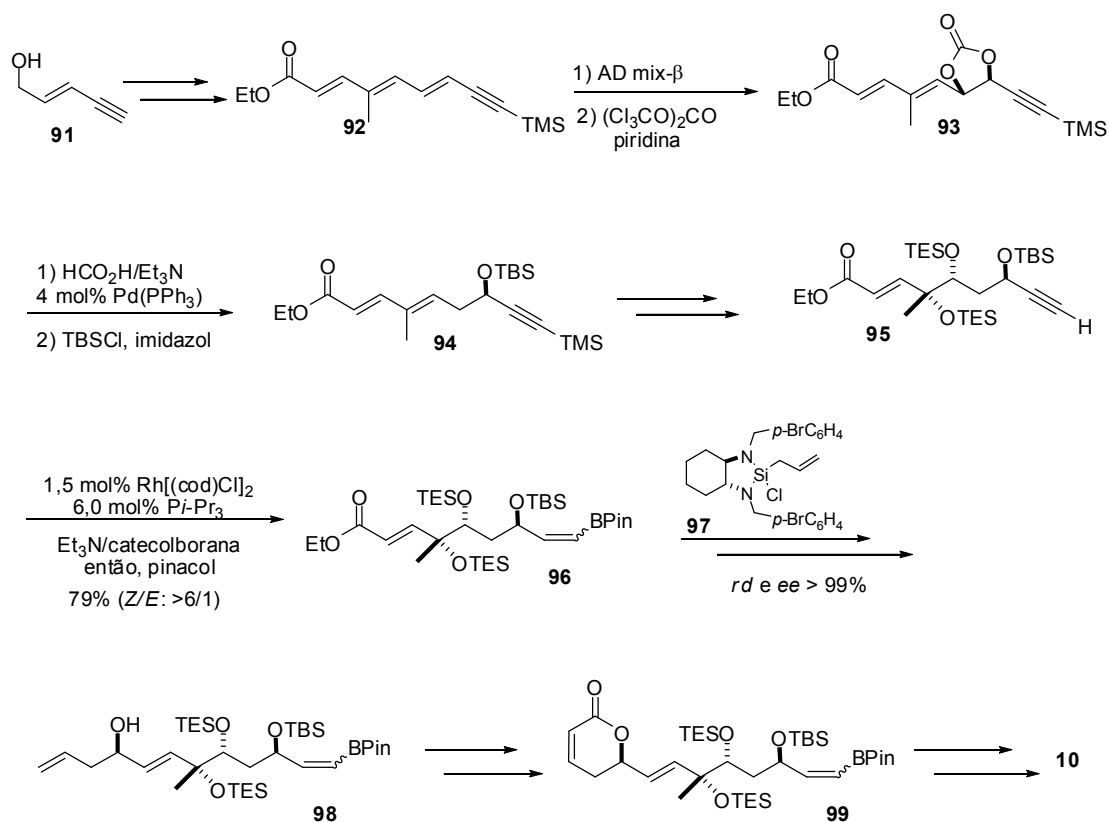
⁴⁶ Norrby, P.-O.; Becker, H.; Sharpless, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 35.

1.4.8. Síntese total descrita por O'Doherty.²³

A síntese descrita por O'Doherty e colaboradores está baseada em reações chave controladas por catálise, fornecendo altas enantio- e diastereosseletividades.

A síntese inicia-se pela preparação do éster poli-insaturado **92** a partir do álcool propargílico **91**, via reações de HWE. Em seguida, o centro estereogênico em C11 foi instalado através de sequência reacional assimétrica de hidratação/oxidação para prover o álcool protegido **94** (Esquema 11). Os centros estereogênicos em C8 e C9 foram instalados via reação de di-hidroxilação assimétrica de Sharpless regioseletiva do dieno **94**, fornecendo o triol protegido **95** após proteção das hidroxilas do diol e remoção do grupo TMS do acetileno. Reação de *trans*-hidroboração catalisada por Rh, seguindo protocolo de Miyaura (1,5 mol% Rh[(cod)Cl]₂, 6,0 mol% *Pi*-Pr₃, trietilamina, catecolborana e então pinacol) forneceu a *Z*-vinilborana **96** em 70% de rendimento e diastereosseletividade *Z/E* > 10/1. Sequência de reações que envolveram redução com DIBAL-H, oxidação com MnO₂ e alilação assimétrica utilizando agente alilsililante de Leighton **97**, forneceram o álcool homoalílico **98** em 61% de rendimento para três etapas, além de *ds* e *ee* > 99%. Esterificação com ácido acrílico e DDC/DMAP, seguida por metátese de olefinas utilizando catalisador de Grubbs de 1ª geração, conduziu à lactona insaturada **99** em 62% de rendimento para as duas etapas. Acoplamento cruzado de Suzuki-Miyaura (20% Pd₂(dba)₃·CHCl₃/ 80% PPh₃), seguida da manipulação dos grupos de proteção, fosforilação e remoção dos protetores de silício forneceu a fostriecina (**10**) em 0,2% de rendimento global para 27 etapas⁴⁷ (Esquema 11).

⁴⁷ Na Conclusão do artigo, o autor menciona que a síntese foi realizada em 24 etapas.



Esquema 11: Síntese total da fostriecina (**10**) descrita por O'Doherty.

Uma comparação entre os rendimentos e o número de etapas das sínteses totais da fostriecina descritas na literatura está apresentada abaixo (Tabela 1).

Tabela 1: Resumo das sínteses totais da fostriecina.

Conclusão	Grupo	No de Etapas	Rend. Global (%)
2001	Boger	25	2,2
2001	Jacobsen	17	1,4
2002	Reddy	19	1,1
2002	Imanishi	24	0,5
2002	Hatakeyama	20	3,6
2005	Shibasaki	23	0,8
2009	McDonald	16	2,4
2010	O'Doherty	27	0,2

Imanishi e Hatakeyama publicaram em outros artigos posteriores sínteses da fostriecina com otimização de algumas reações, com intuito de tornar a rota mais eficiente para a síntese de análogos e derivados.⁴⁸ Inúmeras outras sínteses formais da fostriecina foram descritas na literatura, merecendo destaque a síntese proposta por Trost em apenas 13 etapas.^{49c}

1.5. A Família da Fostriecina: Inibidores de Fosfatases

O balanço entre fosforilação e desfosforilação de proteínas é a base para o controle de diversos eventos biológicos disparados por efetores extracelulares, tais como: hormônios, mitógenos, carcinógenos, citocinas e neurotransmissores.⁵⁰ Em células eucarióticas as atividades de pelo menos 30% das proteínas podem ser reguladas por fosforilação. As proteínas responsáveis pelos processos de fosforilação são denominadas de quinases (PK), enquanto aquelas envolvidas em processo de desfosforilação são denominadas de fosfatases (PP) e essas proteínas são responsáveis por uma rede de regulação intracelular altamente sofisticada.⁵¹

Em particular, a fosforilação e desfosforilação de resíduos de treonina, serina e tirosina em proteínas têm emergido como eventos chaves na regulação da divisão, diferenciação, desenvolvimento celular e apoptose, regulação do metabolismo e expressão gênica, contração, transporte, locomoção celular, aprendizado e memória.^{50,52} As atividades das PK e PP são cuidadosa e fortemente reguladas *in vivo*. Mudanças anormais na atividade dessas enzimas

⁴⁸ a) Miyashita, K.; Ikejiri, M.; Kawasaki, H.; Maemura, S.; Imanishi, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8238; b) Sankar, S. M.; Wanzala, E. N.; Shibahara, S.; Takahashi, K.; Ishihara, J.; Hatakeyama, S. *Chem. Comm.* **2009**, 5907.

⁴⁹ a) Wang, Y- G.; Kobayashi, Y. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4615; b) Fujii, K.; Maki, K.; Kanai, M.; Shibasaki, M. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 733; c) Trost, B. M.; Frederiksen, M. U.; Papillon, J. P. N.; Harrington, P. E.; Shin, S.; Sreeman, B. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3666; d) Yadav, J. S.; Prathap, I.; Tadi, B. P. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 3773; e) Hayashi, Y.; Yamaguchi, H.; Toyoshima, M.; Okado, K.; Toyo, T.; Shoji, M. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1405.

⁵⁰ a) Harrison, S.; Page, C. P.; Spina, D. *Gen. Pharmacol.* **1999**, *32*, 287; b) Ostman, A. Bohmer, F. D. *Trends Cell Biol.* **2001**, *11*, 258.

⁵¹ Sheppeck, J. E.; Gauss, C. E.; Chamberlin, A. R. *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 1739.

⁵² Cohen, P. *Proc. Roy. Soc. Ser. B.* **1998**, *234*, 115; b) Denu, J. M.; Tañer, K. G. *Biochemistry* **1998**, *37*, 5633; c) Jonson, L. N.; Barford, D. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1993**, *22*, 199; d) Trowbridge, I. S. *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 23517.

podem ter consequências graves, que incluem neoplasias, diabetes, inflamação e doenças resultantes de defeitos imunológicos.^{50,53}

O êxito dos inibidores de proteínas tirosinas quinases dirigidos ao tratamento de câncer, como *Imatinib* e *Gefitinib*, tem gerado um forte interesse em identificar outros inibidores de quinases. É estimado que cerca de 20 a 30% dos programas de descobertas de novas drogas das companhias farmacêuticas estão focados em inibidores de proteínas quinases.⁵⁴ Em contrapartida, não há nenhum inibidor de proteína fosfatase aprovado clinicamente para o tratamento de câncer, apesar de estudos de RNAi indicarem que 72 (32%) das 222 fosfatases conhecidas no genoma humano regulam a sobrevivência de células tumorais e a apoptose.⁵⁵ Essa informação é relevante, uma vez que os substratos específicos das proteínas fosfatases não estão relacionados diretamente aos alvos das proteínas quinases, promovendo então um sistema regulatório celular não redundante.

O número de fosfatases conhecidas é superior a 100, mas estima-se, em função do genoma humano, que possa ultrapassar 1000. As proteínas fosfatases são classificadas de acordo com a homologia da sequência de aminoácidos, estrutura tridimensional, dependência de metais, sensibilidade a inibidores e principalmente a especificidade por substratos. Em eucariotas, as proteínas fosfatases podem ser reunidas em dois grandes grupos: Proteínas Tirosina Fosfatases (PTP) e Proteínas Serina/Treonina Fosfatases (PSTP). As PTPs desfosforilam proteínas nos resíduos de tirosina, enquanto que as PSTP desfosforilam em resíduos de serina e/ou treonina.⁵⁶

Mesmo sabendo que as fosfatases estão envolvidas em inúmeros mecanismos de regulação celular, seus mecanismos de ação ainda não estão completamente elucidados. De acordo com a abordagem química genética, moléculas pequenas, *bioprobes*, são utilizadas diretamente para alterar a função da proteína por meio de ligação ao sítio de ação dessa, expressando ou inibindo a função desses alvos; dessa forma, pode-se investigar a função da proteína na

⁵³ Alexander, A. *Sem. Immunol.* **2000**, 12, 349.

⁵⁴ Cohen, P. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, 1, 309.

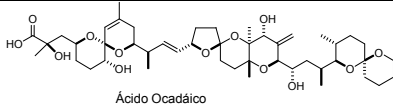
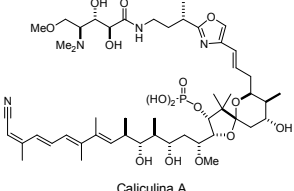
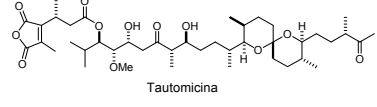
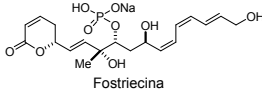
⁵⁵ MacKeigan, J. P.; Murphy, L. O. Blenis, J. *Nat. Cell. Biol.* **2005**, 7, 591.

⁵⁶ Lazo, J. S.; Wipf, P. *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2009**, 10, 1297.

célula. Nesta área, vários compostos bioativos e seus alvos protéicos têm emergido, a exemplo disso tem-se a pironetina que se liga ao resíduo Lys-352 da α -tubulina, inibindo seu enovelamento e detém a progressão do ciclo celular na fase M.⁵⁷

Nesta linha de raciocínio, inúmeros produtos naturais já foram isolados e apresentam atividade inibidora de fosfatase; dentre eles tem-se o ácido ocadáico, a caliculina, a tautomicina e a fostriecina, entre outros (Tabela 2).⁵⁸

Tabela 2: Estrutura de produtos naturais inibidores de PP1 e PP2A e os valores de IC₅₀.

Inibidores	IC ₅₀ PP1	IC ₅₀ PP2A
 Ácido Ocadáico	20 nM	0,2 nM
 Caliculina A	0,5 – 2 nM	0,1 – 1 nM
 Tautomicina	0,2 nM	1,0 nM
 Fostriecina	45000 nM	1,5 nM

Como consequência da inibição da PP2A, a fostriecina apresentou atividade antitumoral contra um vasto espectro de células tumorais *in vivo* e

⁵⁷ Usui, T., Watanabe, H., Nakayama, H., Tada, Y., Kanoh, N., Kondoh, M., Asao, T., Takio, K., Watanabe, H., Nishikawa, K., Kitahara, T. and Osada, H. *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 799.

⁵⁸ a) Ácido ocadáico: Tachibana, K.; Scheuer, P. J.; Tsukitani, Y.; Kikuchi, Y.; Van Engen, D.; Clardy, J.; Gopichand, Y.; Schmitz, F. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2469; b) Caliculina A: Kato, Y.; Fusetani, N.; Matsunaga, S.; Hashimoto, K.; Fujita, S.; Furuya, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2780; c) Tautomicina: Cheng, X. C.; Ubukata, M.; Isono, K. *J. Antibiot.* **1990**, *43*, 809; d) Fostriecina: Cheng, A.; Balczon, R.; Zuo, Z.; Koons, J. S.; Walsh, A. H.; Honkanen, R. E. *Cancer Res.* **1998**, *58*, 3611.

mostrou excelente atividade inibitória *in vivo* contra células leucêmicas de ratos do tipo L1210 e P388. Sabe-se que a inibição desta fosfatase induz a perturbação no ponto de controle do processo de mitose celular,¹¹ além disso, estudos sugerem que a PP2A seja um supressor tumoral por causa da habilidade dessa enzima em regular negativamente oncoproteínas como a bcr-abl.⁵⁶

A fostriecina foi submetida a estudos de triagem em fase clínica I em pacientes com câncer, no entanto estes estudos foram suspensos, porque o composto se mostrou susceptível a oxidação, instável e de difícil obtenção com o necessário grau de pureza. Estudos de relação estrutura-atividade (SAR) forneceram compostos ativos e mais estáveis para triagem clínica, além de identificarem alguns grupos farmacofóricos para atividade do composto.⁵⁹

Os estudos com os compostos pertencentes à família da fostriecina continuam em evidência: a) na área de síntese orgânica, onde se busca a preparação de compostos com rotas cada vez mais eficientes que forneçam quantidades maiores de compostos para estudos biológicos e b) na área de química biológica que nos fornece dados para entender como o composto está atuando em um determinado evento biológico. Apesar disso, Sugawara e colaboradores verificaram que a fostriecina apresenta inibição da PP2A devido a uma interação entre a porção di-hidropirânica com o resíduo cisteína-269 de uma subunidade catalítica dessa enzima.⁶⁰ De maneira similar, Simizu e colaboradores reportaram a inibição da PP2A pela foslactomicina A pela mesma interação entre a porção di-hidropirânica do composto com o resíduo cisteína-269 da subunidade catalítica PP2Ac.⁶¹

Outra descoberta recente do ponto de vista biológico relacionada a foslactomicina A é que este composto inibiu a metástase pulmonar em camundongos por meio da ativação das células *natural killer*, provavelmente pela inibição da PP2A.⁶² Portanto, a disponibilidade de análogos sintéticos

⁵⁹ Swingle, M. S.; Amable, L.; Lawhorn, B. G.; Buck, S. B.; Burke, C. P.; Ratti, P.; Fischer, K. L.; Boger, D. L.; Honkanen, R. E. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2009**, *331*, 45.

⁶⁰ Takeuchi, T.; Takahashi, N.; Ishi, K.; Kusayanagi, T.; Kuramochi, K.; Sugawara, F. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 8113.

⁶¹ Teruya, T.; Simizu, S.; Kanoh, N.; Osada, H. *FEBS Lett.* **2005**, *579*, 2463.

⁶² Kawada, M.; Kawatsu, M.; Masuda, T.; Ohba, S.; Amemiya, M.; Kohama, T.; Ishizuca, M.; Takeuchi, T. *Int. Immunopharmacol.* **2003**, *3*, 179.

simplificados de fostriecina poderá facilitar futuras investigações biológicas sobre a PP2A e outras fosfatases.

2. Justificativa

Os produtos naturais oferecem uma gama de compostos com variadas estruturas, promovendo a um químico uma plataforma estrutural que pode render um composto terapeuticamente viável do ponto de vista farmacêutico.

A descoberta de um novo fármaco de valor na medicina é uma tarefa difícil, levando-se em conta as dificuldades na obtenção do composto e longo tempo de testes clínicos até serem aprovados. As três formas principais de obtenção de fármacos são: a partir do extrato de plantas (fitoterápicos), da fermentação com microorganismos ou através da síntese ou semissíntese do composto.⁶³

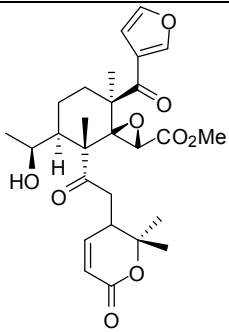
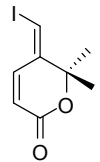
Utilizando a estratégia sintética para preparação de um determinado composto, tem-se a vantagem de se fazer modificações estruturais que possibilite a obtenção de compostos estruturalmente mais simples e forneça uma resposta biológica mais eficiente e seletiva.

Além disso, a síntese de um produto natural pode fornecer intermediários avançados, estruturalmente mais simples, que apresentam atividade biológica mais pronunciada que o produto final, estruturalmente mais complexo. Como exemplo disso, tem-se a síntese da Haperforina B1 (**100**) por Bignon e colaboradores, que isolaram o intermediário IDDP **101** estruturalmente bem mais simples, que apresentou IC₅₀ menor que o produto final para várias linhagens de células tumorais (Tabela 3).⁶⁴

⁶³ Wilson, R. M.; Danishefsky, S. J. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 8329.

⁶⁴ Bignon, J.; Bénéchie, M.; Herlem, D.; Liu, J. -M.; Pinault, A.; -Huu, F. K.; -Bakala, J. W. *Anticancer Res.* **2009**, 29, 1963.

Tabela 3: Estruturas da Haperforina B1 (**100**) e do IDDP **101** e os valores de IC₅₀ para linhagens de células tumorais.

 Haperforina B1 (100)  IDDP 101		
Linagem celular	IDDP	Haperforina B1
KB	0,45±0,01	15±0,12
HCT116	0,28±0,03	16±0,18
U87	0,18±0,05	3±0,24
A549	0,44±0,12	20±0,36
MCF7	0,33±0,07	22±0,20
H1299	0,39±0,03	Nd
MDA-MB231	0,50±0,13	Nd
K562	0,15±0,02	Nd
K562-ADR	0,07±0,03	Nd

Citotoxicidade (IC₅₀) de IDDP e haperforina B1

Na síntese total das Anguinomicinas C e D (**102** e **103**) é observado o mesmo evento de maneira similar, no qual a lactona α,β -insaturada **104**, intermediário sintético estruturalmente mais simples que os produtos naturais, apresenta equivalente atividade inibitória do receptor CRM-1 (Figura 6).⁶⁵

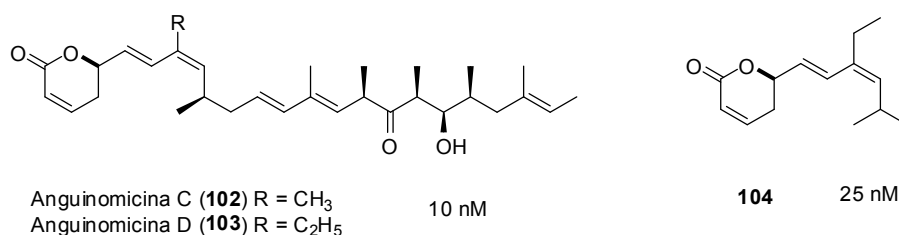


Figura 6: Estruturas das Anguinomicinas C e D (**102**, **103**) e da lactona **104** e os valores de inibição do receptor CRM-1.

⁶⁵ Bonazzi, S.; Eidam, O.; Güttinger, S.; Wach, J. –Y.; Zemp, I.; Kutay, U.; Gademann, K. *J. Am Chem. Soc.* **2010**, 132, 1432.

O grupo de pesquisa do Prof. Pilli realizou extensivos estudos na síntese e avaliação biológica *in vitro* da (*R*)-goniotalamina (configuração do produto natural), da (*S*)-goniotalamina e análogos desses, objeto de estudo da tese de doutorado do então aluno Ângelo de Fátima em 2005.⁶⁶ Atualmente, testes *in vivo* estão sendo realizados e tem-se resultados bastante promissores.⁶⁷

Em vista disso, baseado nos excelentes resultados prévios descritos para a família da fostriecina, no que diz respeito à atividade anticâncer, através da inibição de fosfatases, aliado a experiência do nosso grupo de pesquisa nos estudos que envolveram a goniotalamina, nos propusemos a fazer a síntese de análogos simplificados **105a** e **105b** desses compostos e avaliar o potencial biológico destes e dos intermediários da síntese (Figura 7).

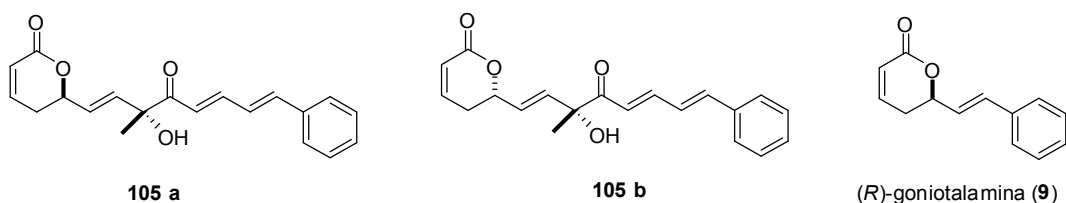


Figura 7: Análogos simplificados de fostriecina **105a** e **105b** e (*R*)-goniotalamina (**9**).

⁶⁶ Ângelo de Fátima. Tese de doutorado: *Goniotalamina, Epoxigoniotalamina, Artilactona e Derivados: Sínteses Totais e Atividade Antiproliferativas contra Células Tumerais Humanas* – IQ – UNICAMP, **2005**. Orientador: Ronaldo Aloise Pilli.

⁶⁷ Costa, D. B. V.; de Castro, I. B. D.; Ruiz, A. L. T. G.; Marquissolo, C.; Pilli, R. A.; de Carvalho, J. E. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 6742.

3. Objetivos

a) Desenvolver uma rota de síntese para obtenção dos análogos simplificados de fostriecina **105a** e **105b**;

b) Avaliar a atividade citotóxica *in vitro* dos análogos, bem como dos intermediários sintéticos, contra oito linhagens de células de tumores: glioma de sistema nervoso central (U251), melanoma (UACC-62), mama (MCF7), ovário resistente (NCI/ADR), rins (786-0), pulmão (NCI-460), próstata (PC-03), ovário (OVCAR-03), cólon (HT-29) e leucemia (K562) em colaboração com o Dr. João Ernesto de Carvalho, CPQBA, Unicamp;

c) Realizar estudos de atividade de inibição de fosfatases, em colaboração com a Profa. Dra. Carmen Veríssima Ferreira do IB-UNICAMP, através da avaliação do efeito dos compostos sintetizados na atividade das proteínas fosfatases isoladas de células da leucemia mielóide aguda e linfócitos humanos normais;

4. Resultados e Discussão

4.1. Estudos sintéticos

As reações que envolvem a formação de ligações C-C tem se mostrado importante ferramenta na síntese de moléculas naturais e não-naturais. Nesse contexto inclui-se, entre outras, a condensação aldólica e as reações de olefinação que apresentam altos controles da geometria da ligação sp^2 - sp^2 formada; as reações aldólicas e de adição de reagentes de alil- e crotilmetais a aldeídos e cetonas que apresentam elevados controles da configuração absoluta dos novos centros estereogênicos formados.⁶⁸

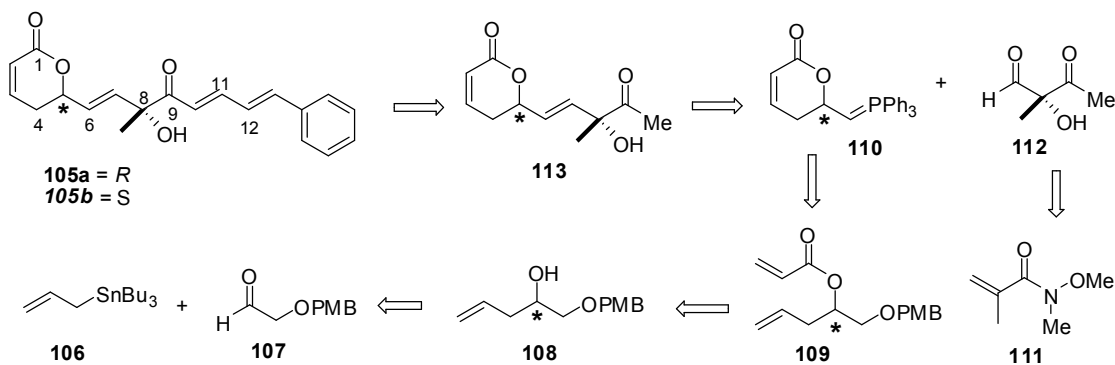
Dessa forma, a estratégia de síntese proposta para obtenção dos análogos simplificados de fostriecina **105a** e **105b** foi orientada por algumas idéias centrais que visavam controlar adequadamente a geometria das ligações duplas presentes na estrutura e a estereoquímica absoluta dos seus centros estereogênicos sem comprometer a eficiência da rota sintética.

Sob tal perspectiva, decidiu-se que a estrutura básica de **105a** e **105b** seria estabelecida através de uma condensação aldólica entre a metilcetona **113** e o *trans*-cinamaldeído (**114**), pois a metodologia favoreceria a preservação da geometria da dupla ligação C10-C11 (Esquema 12).

Enquanto que a obtenção da metilcetona **113**, contendo os dois centros estereogênicos em C5 e C8 e a dupla ligação C6-C7 de geometria *E*, pode ser prontamente imaginada através de olefinação de Wittig entre a fosforana **110** e o aldeído **112**. O fragmento **110** seria proveniente do éster **109**, via metátese de olefinas para fechamento de anel utilizando catalisador de Grubbs⁶⁹ e o aldeído **112** seria oriundo da amida de Weinreb **111**, após etapas de di-hidroxilação assimétrica de Sharpless, seguida de oxidação com IBX. O centro estereogênico em C5 seria assegurado através da adição do alil-*n*-tributylestanho **106** ao aldeído **107** via metodologia de alilação assimétrica.

⁶⁸ a) Kolodiazny, O. I. *Phosphorus Ylides: Chemistry and Application in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**; b) Sun, X. -L.; Tang, Y. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 937; c) Mahrwald, R.; Evans, D. A. *Modern Aldol Reactions*, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**; d) Yamamoto, H.; Futatsugi, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1924.

⁶⁹ Grubbs, R. H. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7117.



Esquema 12: Retrossíntese dos análogos simplificados de fostriecina **105a** e **105b**.

Em 1988, Sharpless e colaboradores descreveram o primeiro método de osmiação assimétrica de olefinas utilizando derivados de amins naturais como ligantes quirais e NMO como co-oxidante do ósmio para aumentar o número de *turnover* e acelerar a reação.⁷⁰ A reação passou por gradual melhoria durante quatro anos, quando Sharpless e colaboradores propuseram um método eficiente e reprodutível para reação de di-hidroxilação assimétrica de olefinas.⁷¹

Primeiro eles utilizaram a mistura $K_3Fe(CN)_6/K_2CO_3$ como agente co-oxidante, baseados nos estudos feitos por Yamamoto *et al.*⁷² Em seguida propuseram a utilização de duas ftalazinas quirais como ligantes cada uma com a função de selecionar uma das faces da ligação dupla a ser atacada pelo ósmio e utilizaram $K_2OsO_2(OH)_4$ como fonte de ósmio não volátil.

As formulações que atualmente são comercializadas pela Aldrich como AD mix- α e AD mix- β , possuem na composição 3 equivalentes de $K_3Fe(CN)_6$, 3 equivalentes de K_2CO_3 , 0,01 equivalentes do ligante e 0,002 equivalentes de $K_2OsO_2(OH)_4$. O que diferencia um do outro é que para o AD mix- α utiliza-se (DHQ)₂-PHAL e para o AD mix- β utiliza-se (DHQD)₂-PHAL (Figura 8).⁷¹

⁷⁰ Jacobsen, E. N.; Markó, I.; Mungall, W.; Schröder, G.; Sharpless, K. B. *J. Am Chem. Soc.* **1988**, *110*, 1968.

⁷¹ Sharpless, K. B.; Amberg, W.; Bennani, Y. L.; Crispino, G. A.; Hartung, J.; Jeong, K. -S.; Kwong, H. -L.; Morikawa, K.; Wang, Z. -M.; Xu, D.; Zang, X. -L. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2768.

⁷² Minato, M.; Yamamoto, K.; Tsuji, J. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 766.

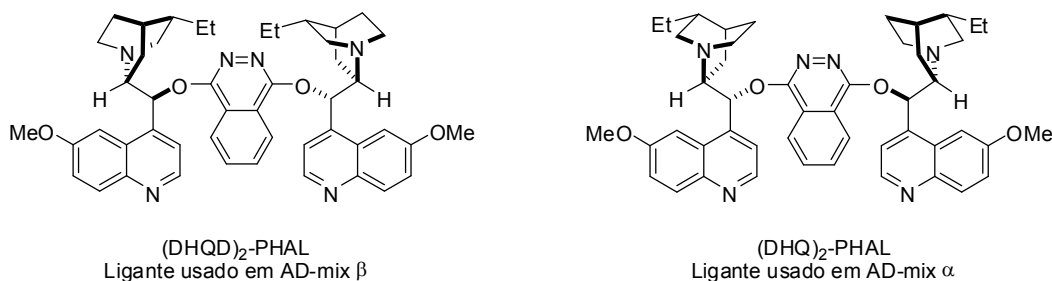


Figura 8: Ligantes usados na mistura AD mix.

O ciclo catalítico simplificado para reação de osmiação de olefinas utilizando essa mistura de compostos propostas por Sharpless está esquematizado abaixo (Figura 9). Um mecanismo mais detalhado e complexo da reação de osmiação foi descrito por Sharpless e colaboradores.⁷³

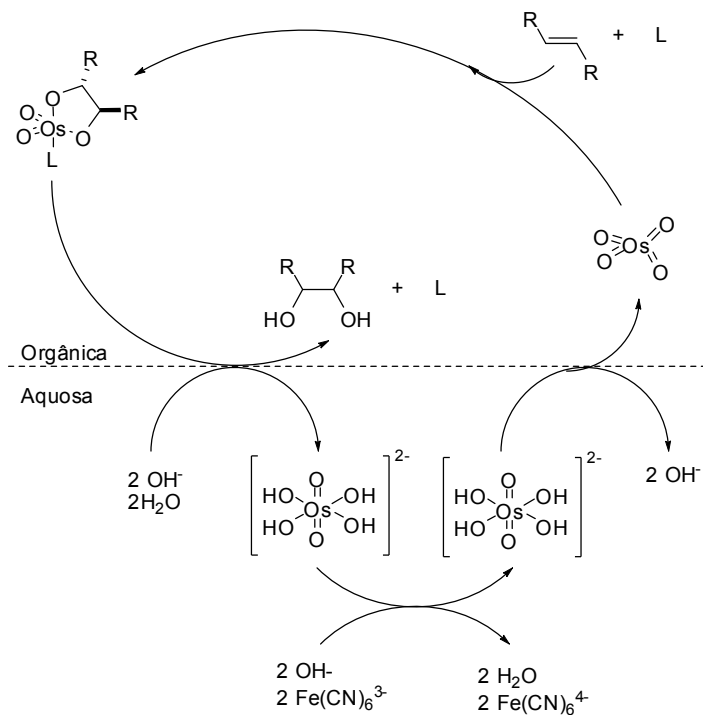


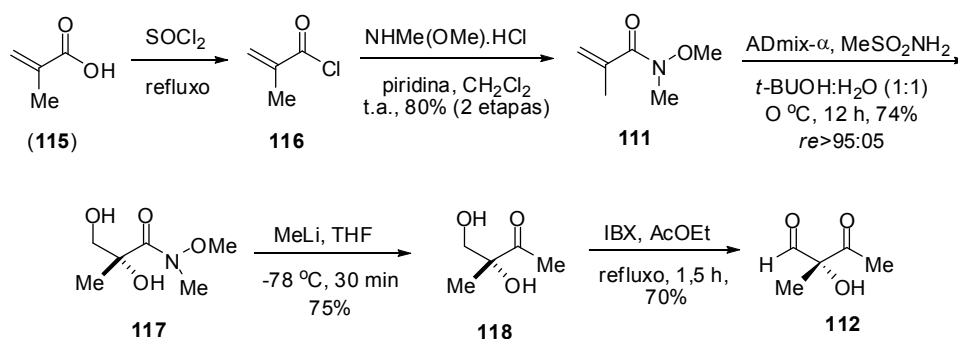
Figura 9: Mecanismo proposto para reação de osmiação de olefinas utilizando AD mix.

A reação é feita normalmente numa mistura 1:1 de *t*-BuOH:H₂O e é proposta a utilização de CH₃SO₂NH₂ (metanossulfonamida) que acelera consideravelmente a hidrólise do glicolato de ósmio (VI) na fase orgânica para

⁷³ Wai, J. S. M.; Markó, I.; Mungall, W. S.; Schroder, G.; Sharpless, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 1968.

liberação do produto final e retornar o ósmio ao ciclo catalítico, diminuindo o tempo de reação.⁷⁴

O aldeído **112** foi preparado em cinco etapas a partir do ácido metacrílico (**115**) em 31% de rendimento global, tendo como etapa chave a reação de di-hidroxilação de Sharpless no composto **111** (Esquema 13). Essa reação visa assegurar a geração do centro estereogênico do composto e, conseqüentemente, a formação do centro quaternário em C8 dos produtos finais **105a** e **105b**.



Esquema 13: Preparação do aldeído **112**.

A formação do cloreto de acila **116** foi realizada na presença de cloreto de tionila, sob refluxo e sem solvente. O produto foi obtido após purificação por destilação simples em 86% de rendimento e foi caracterizado, além do ponto de ebulição, por análise do espectro de IV, que apresentou uma banda em 1784 cm^{-1} característica do estiramento de carbonilas de cloretos de acila.

O cloreto de acila **116** foi então convertido na *N*-metoxi-*N*-metilamida **111** pela reação com cloridrato de *N*,*O*-dimetil-hidroxilamina a $0\text{ }^\circ\text{C}$ em 93% de rendimento. Novamente o composto pode ser caracterizado por análise dos dados de IV, onde apresentou um deslocamento da banda de absorção da carbonila de amida para menores frequências (1657 cm^{-1}) em relação à carbonila do cloreto de acila (1784 cm^{-1}). Corroborando a caracterização do composto, o espectro de ^1H -RMN apresentou os sinais em 3,10 (NCH_3) e 3,52 ppm (OCH_3), referentes à amida de Weinreb. O espectro de ^{13}C -RMN mostrou os sinais relativos à amida em 33,0 (NCH_3), 60,8 (OCH_3) e 171,1 ppm (CO).

⁷⁴ Para uma revisão detalhada do processo de di-hidroxilação assimétrica catalítica ver: Kolb, H. C.; VanNieuwenhze, M. S.; Sharpless, K. B. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2483.

A *N*-metoxi-*N*-metilamida **111** foi então convertida no correspondente diol **117** através de reação de di-hidroxilação assimétrica de Sharpless. Avenozza e colaboradores⁷⁵ já haviam descrito a síntese desse composto, então decidimos utilizar as mesmas condições propostas pelos autores, que consistiu do uso de AD mix- α e MeSO₂NH₂ em uma mistura de *t*-BuOH:H₂O (1:1), a 0 °C por 12 h. O produto foi obtido em 74% de rendimento {[α]_D²⁵ = +4,5 (c 1,80; MeOH); lit.⁷⁵ [α]_D²⁵ = + 4,7 (c 1,80; MeOH)}.

A análise do espectro de ¹H-RMN evidenciou a formação do diol **117** pelo deslocamento dos sinais em 5,10 e 5,16 ppm em **111**, referente aos hidrogênios olefínicos, para 3,58 (*J*=11,4 Hz) e 3,88 ppm (*J*=11,4 Hz) (HOCH₂), referente aos hidrogênios diastereotópicos. O espectro de ¹³C-RMN apresentou os sinais de carbono carbinólico em 67,6 (HOCH₂) e 75,9 ppm (C[#]) em detrimento aos carbonos olefícos em 117,0 e 139,8 ppm do material de partida. O espectro de IV apresentou uma banda larga em 3432 cm⁻¹ referente ao estiramento O-H.

Com o intuito de se determinar a razão enantiomérica da reação de di-hidroxilação assimétrica, realizamos a síntese do diol **117** na forma racêmica utilizando para isso OsO₄ e NMO na mistura acetona:H₂O (9:1), alcançando o produto desejado em 60% de rendimento. De posse desse e do composto opticamente enriquecido determinamos, através de análise por cromatografia gasosa utilizando coluna com fase quiral, a razão enantiomérica do produto como sendo >95:5 (Figura 10).

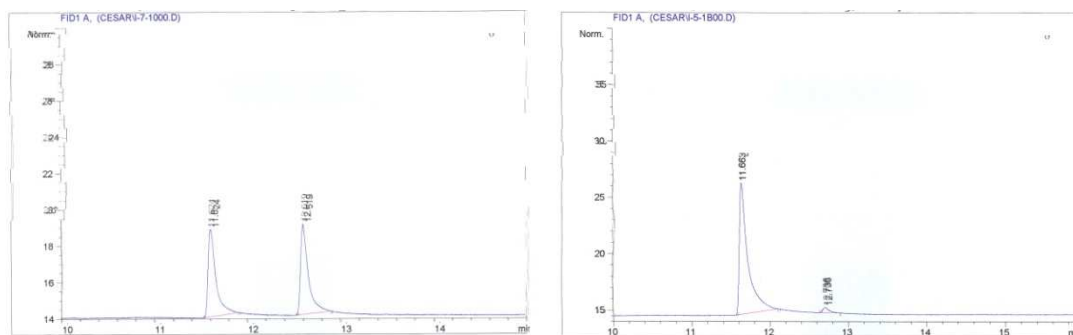
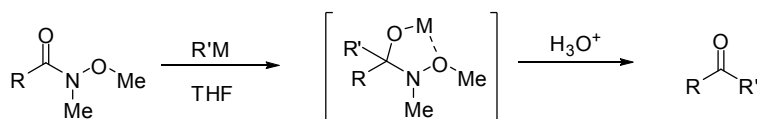


Figura 10: Cromatogramas obtido por CG do composto **112**, mistura racêmica e opticamente enriquecida. Condições: CP-Chirasil-DEX CB (25m x 0,25 mm; df = 0,25 μ m); temperatura/tempo inicial: 120 °C/10 min.; temperatura/tempo final: 180 °C/15 min.; taxa: 2 °C/min.; gás de arraste: H₂ e detector de FID.

⁷⁵ Avenozza, A.; Busto, J. H.; Corzana, F.; Jiménez-Osés, G.; París, M.; Peregrina, J. M.; Sucunza, D.; Zurbano, M. M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, 15, 131.

A próxima etapa seria a transformação da amida de Weinreb **117** na metilcetona **118** por meio de adição de alquilítio (Esquema 13).

As *N*-metoxi-*N*-metilamidas atuam como agentes acilantes efetivos, pois não produzem álcoois terciários mesmo na presença de grandes excessos de organometálicos e não requerem um controle crucial das condições experimentais para o sucesso da reação, como no caso dos demais derivados de ácidos carboxílicos. A explicação para este comportamento decorre da participação de um intermediário metálico quelado estável, que impediria a formação de produtos de múltipla adição (Esquema 14). Dessa forma, as *N*-metoxi-*N*-metilamidas comportam-se como importantes precursores de cetonas, na reação com reagentes de Grignard e organolítios, e de aldeídos, na redução com hidretos metálicos.⁷⁶



Esquema 14: Mecanismo proposto para conversão de *N*-metoxi-*N*-metilamidas em cetonas.

A *N*-metoxi-*N*-metilamida **117** foi convertida na cetona **118** utilizando 3,0 equivalentes de metil-lítio em 75% de rendimento. Análise do espectro de ¹H-RMN evidenciou a formação do composto desejado pelo desaparecimento dos sinais em 3,26 (NCH₃) e 3,72 ppm (OCH₃) e pelo aparecimento do sinal em 1,98 ppm (OCCH₃), referente à metila da cetona. No espectro de ¹³C-RMN foi verificado o desaparecimento do sinal da carbonila de 174,8 ppm e o surgimento de um sinal em 201,2 ppm, característico de cetonas. No espectro de IV foi observada uma banda de carbonila em 1720 cm⁻¹, bem característica de estiramento de carbonilas de cetonas.

A oxidação do composto **118** foi alcançada com melhores resultados quando IBX⁷⁷ foi utilizado como agente oxidante em acetato de etila sob refluxo, fornecendo a aldeído **112** em 70% de rendimento (Esquema 13). Utilizando as

⁷⁶ Basha, A.; Lipton, N.; Weinreb, S. M. *Tetrahedron Lett.* **1977**, 4171.

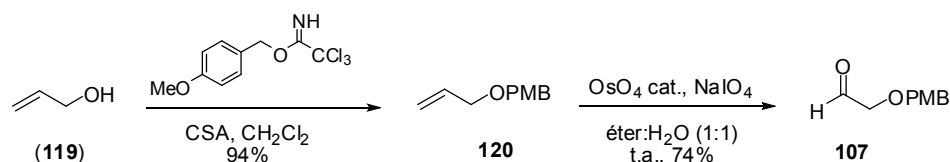
⁷⁷ Schulze, A.; Giannis, A. *Synthesis.* **2006**, 2, 0257.

condições de oxidação propostas por Swern⁷⁸ rendimentos inferiores (54%) foi alcançado.

A análise do espectro de IV evidenciou a oxidação do carbono desejado pelo aparecimento de uma banda de estiramento de carbonila em 1740 cm⁻¹, bastante característica de aldeídos.

Uma vez obtido o aldeído **112**, iniciamos a tentativa de preparação da fosforana **110**. Este fragmento mostrava-se bastante interessante, porque carregava já na sua estrutura o anel di-hidropirânico. Não obstante, o centro estereogênico em C5 seria formado nessa etapa do trabalho através de reação de alilação assimétrica.

Como início da síntese da fosforana **110**, o álcool alílico (**119**) teve sua hidroxila protegida na presença de tricloroacetimidato de *p*-metoxibenzila⁷⁹ alcançada com melhores resultados, utilizando ácido canforsulfônico (CSA) catalítico e diclorometano como solvente, fornecendo o composto **120** em 94% de rendimento após 18h de reação (Esquema 15).



Esquema 15: Preparação dos compostos **120** e **107**.

A análise de ¹H-RMN evidenciou a incorporação do grupo *p*-metoxibenzila pela presença dos sinais 3,80 (ArOCH₃), 4,45 (CH₂Ar), 6,87 (d, *J*=8,8 Hz, ArH_m); 7,27 (d, *J*=8,8 Hz, ArH_o). O espectro de ¹³C-RMN apresentou os sinais relativos ao grupo *p*-metoxibenzila em 55,3 (ArOCH₃), 71,8 (OCH₂Ar) e na região dos aromáticos 113,7; 129,2; 130,2; 159,0.

O álcool alílico **120** protegido como éter de PMB foi então convertido ao aldeído **107** através de uma reação de clivagem oxidativa segundo a metodologia de Lemieux-Johnson⁸⁰ em 74% de rendimento (Esquema 15). A caracterização do aldeído **107** por ¹H-RMN foi baseada no aparecimento do sinal em 9,70 ppm

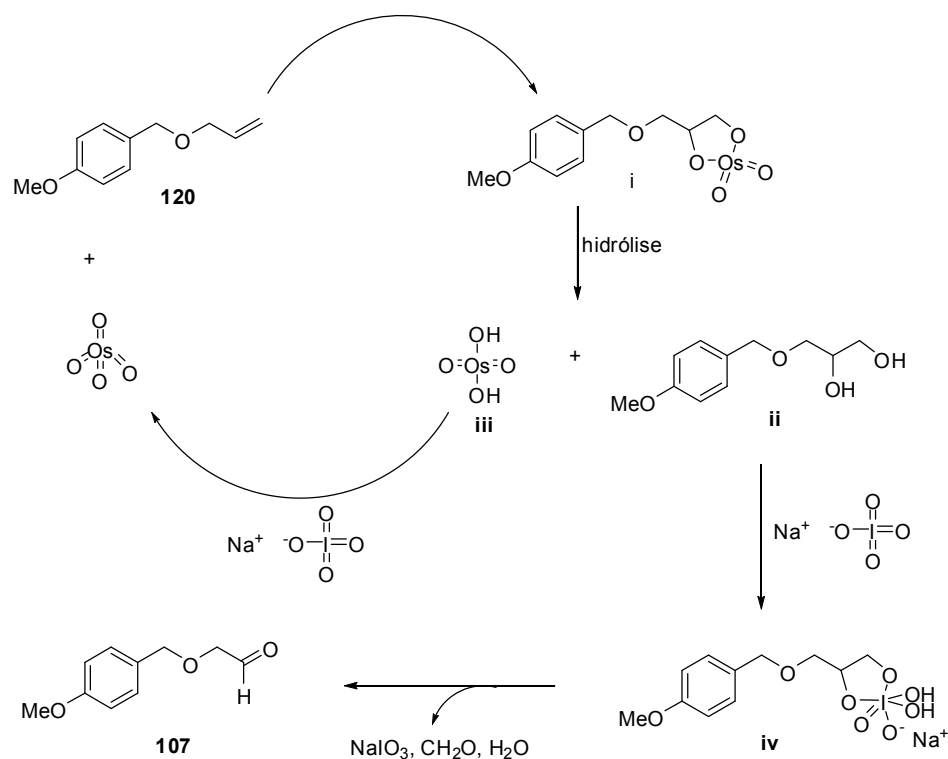
⁷⁸ a) Mancuso, A. J.; Huang, S. L.; Swern, D. J. *Org. Chem.* **1978**, 43, 2480; b) Dias, L. C.; de Oliveira, L. G.; Vilcachagua, J. D.; Nigsch, F. J. *Org. Chem.* **2005**, 70, 2225.

⁷⁹ Patil, V. J. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 1481.

⁸⁰ Pappo, R.; Allen Jr., D. S.; Lemieux, R. U.; Johnson, W.S. *J. Org. Chem.* **1956**, 21, 476.

(CHO), em detrimento aos sinais em 5,19, 5,29, 5,93 ppm referentes aos hidrogênios olefínicos do éter de PMB **120**.

O método de Lemieux-Johnson⁸⁰ emprega quantidades catalíticas de tetróxido de ósmio na presença de periodato de sódio. A formação do aldeído **107**, por exemplo, envolve a adição 1,3-dipolar do tetróxido de ósmio à dupla ligação formando um derivado éster monomérico de ósmio (VI) **i** que, nas condições empregadas, sofre hidrólise formando o correspondente diol **ii**. O periodato de sódio em excesso promove a oxidação da forma reduzida do tetróxido de ósmio **iii** que é então reintegrado ao ciclo catalítico, além de promover a clivagem e oxidação do diol **ii** fornecendo o produto desejado **107** (Esquema 16).



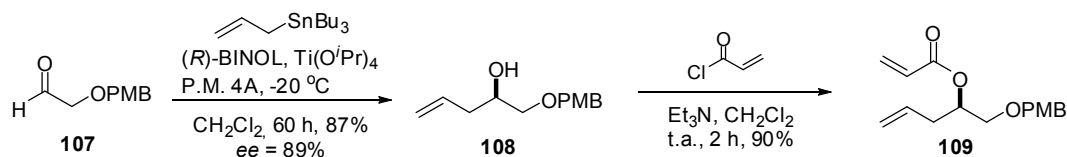
Esquema 16: Mecanismo de clivagem oxidativa de **120** para obtenção do aldeído **107** segundo a metodologia de Lemieux-Johnson.

Vale ressaltar que o aldeído **107** não possui estabilidade química apreciável e somente pode ser estocado dissolvido em benzeno seco e congelado por um curto período de tempo. A purificação por coluna cromatográfica deve ser feita rapidamente utilizando sílica *flash*, porque também em contato prolongado com a

sílica o aldeído sofre decomposição. Por essas razões não foi possível todas as caracterizações do composto, que foi rapidamente utilizado na etapa seguinte.

Em 1998, Keck e colaboradores descreveram a adição de aliltri-*n*-butilestanho (**106**) ao benziloxiacetaldeído catalisada pelo sistema ácido de Lewis (S)-BINOL/Ti(O^{*i*}Pr)₄, levando ao álcool homoalílico correspondente em 80-87% de rendimento e 94-96% de excesso enantiométrico.⁸¹ Nosso grupo de pesquisa também estendeu essa metodologia para síntese da goniotalamina e análogos,⁸² obtendo rendimentos e excessos enantiométricos bem próximos dos relatados por Keck e colaboradores.

O aldeído **107** foi então submetido às condições de alilação propostas pelos autores acima citados, na qual se emprega aliltri-*n*-butilestanho (**106**) como agente alilante na presença de 10 mol% do catalisador (R)- ou (S)-BINOL/Ti(O^{*i*}Pr)₄. O processo descrito emprega quantidades catalíticas do Ti(O^{*i*}Pr)₄ e do (R)-BINOL em diclorometano na presença de peneira molecular (4Å MS) sob a temperatura de -20 °C por 60 horas.⁸¹ Obtivemos o álcool homoalílico desejado **108** em 87% de rendimento e 89% de excesso enantiométrico em completa concordância com valores descritos na literatura¹⁰ (Esquema 17).



Esquema 17: Preparação dos compostos **108** e **109**.

A análise de ¹H-RMN evidenciou a incorporação do grupamento alila pela presença dos sinais em δ 2,26 (t, *J*=6,6 Hz, CHCH₂CH); 3,85 (m, CH₂CHOH); 5,11 (m, CH₂CH); 5,82 (ddt, *J*=17,2; 10,1 e 6,6 Hz, CH₂CHCH₂) e o desaparecimento do sinal em 9,70 ppm, referente ao hidrogênio do grupo formila de **107**. O espectro de ¹³C-RMN apresentou os sinais relativos ao grupo alila em 37,8 (CHCH₂CH); 117,6 (CH₂CH) e 134,2 ppm (CH₂CHCH₂), além do sinal referente ao carbono carbinólico em 69,6 ppm.

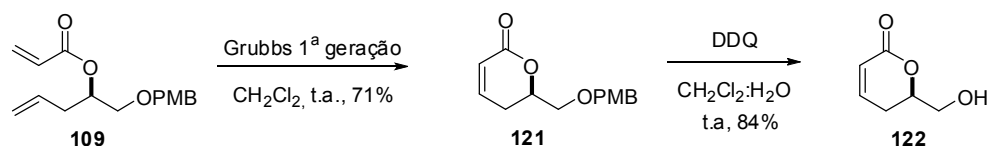
⁸¹ Keck, G. E.; Krishnamurthy, D. *Org. Synthesis* **1998**, 75, 12.

⁸² de Fátima, A.; Marquissolo, C.; de Albuquerque, S.; -Abrahão, A. A. C.; Pilli, R. A. *Eur. J. Med Chem.* **2006**, 41, 1210 e artigos relacionados.

O álcool homoalílico **108** foi então convertido no éster **109** através de esterificação, obtendo melhores resultados quando se utilizou 1,5 equivalentes de cloreto de acrilóila na presença de 3,0 equivalentes de trietilamina em solução diluída de diclorometano (Esquema 17). Após 15 minutos de reação, o solvente foi evaporado e o produto prontamente purificado por coluna cromatográfica, sem ter passado por tratamento aquoso. O éster **109** foi obtido em 90% de rendimento (Esquema 17).

O éster **109** foi caracterizado por ^1H -RMN apresentando os sinais referentes ao grupo acila incorporado em δ 5,83 (dd, $J=10,2$ e $1,5$ Hz, CH_2CH); 6,13 (dd, $J=17,2$ e $10,2$ Hz, CH_2CHCO_2); 6,41 ppm (dd, $J=17,2$ e $1,5$ Hz, CH_2CH), além do deslocamento do sinal do hidrogênio do carbono carbinólico de 3,85 ppm no álcool **108** para 5,15 ppm no éster. O espectro de ^{13}C -RMN apresentou os sinais em 128,6 (CH_2CHCO_2), 130,8 (CH_2CH), 165,7 ppm (CHCO_2), referentes ao grupo acrilóila. A análise de IV mostrou a carbonila de éster em 1728 cm^{-1} e o desaparecimento da absorção da hidroxila.

Dando prosseguimento à síntese da fosforana **110** o intermediário **109** foi submetido às condições de metátese de olefinas para fechamento de anel empregando-se o catalisador de Grubbs de 1ª geração (Figura 11),³⁴ o que nos permitiu obter a lactona **121** em 71% de rendimento (Esquema 18).



Esquema 18: Preparação dos compostos **121** e **122**.

O espectro na região do IV do composto **121** apresentou uma banda em 1728 cm^{-1} referente ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ da lactona. O espectro de ^1H -RMN apresentou os sinais referentes à dupla ligação da lactona α,β -insaturada em 6,02 (ddd, $J = 9,5$; $2,9$ e $1,1$ Hz, O_2CCHCH) e 6,84 ppm (m, CHCHCH_2). O espectro de ^{13}C -RMN apresentou 12 sinais referentes aos 14 carbonos presentes na estrutura de **121**, merecendo destaque para os sinais em 120,9 (O_2CCHCH) e 145,0 ppm (CHCHCH_2), referentes aos carbonos sp^2 do anel lactônico e 163,6 ppm (OCOCH), referente à carbonila da lactona.

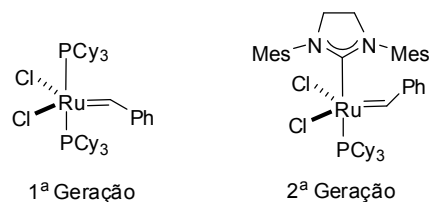
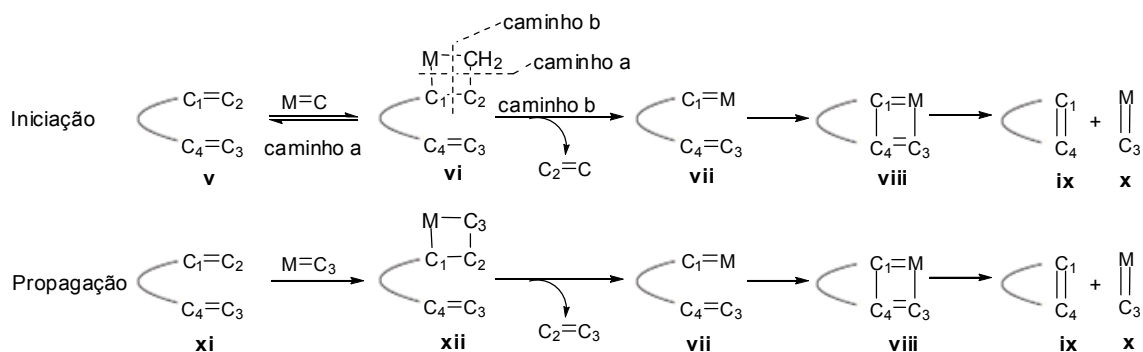


Figura 11: Estruturas dos catalisadores de Grubbs de primeira e segunda geração.

A reação de metátese de olefinas tem se mostrado um método altamente eficiente para construção de sistemas cíclicos.⁸³ E, em termos gerais, o ciclo catalítico consiste de uma fase de iniciação (geração do complexo ativo) e uma fase de propagação (Esquema 19).^{83a} A catálise inicia-se com uma metátese entre um alquilideno ($M=C$) e uma das duas olefinas do substrato (**v**) para gerar um metalaciclobutano (**vi**). O metalaciclobutano pode reverter para **v** e $M=C$ (caminho a) ou as outras duas ligações do anel podem ser rompidas, formando **vii**, no qual o metal (M) está ligado ao substrato. Formação de outro metalaciclobutano (**viii**) seguida de ruptura das ligações forneceu o produto cíclico **ix** e o $M=C_3$ (**x**), que servirá como agente catalisador. A identificação dos intermediários no ciclo catalítico já está bem estabelecida.⁸⁴



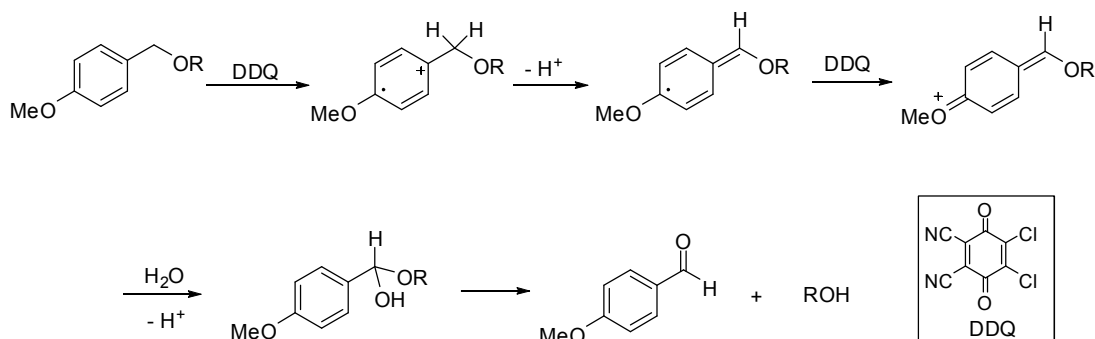
Esquema 19: Mecanismo geral para metátese de olefina para fechamento de anel.

A etapa seguinte envolveu a remoção do grupo de proteção PMB presente em **121**. Para tal, fez-se o uso de DDQ em CH_2Cl_2 e H_2O a temperatura ambiente, fornecendo o produto desejado **122** em 84% de rendimento (Esquema 18).

⁸³ a) Hoveyda, A. H.; Zhugralin, A. R. *Nature* **2007**, 450, 243; b) Frederico, D.; Brocksom, U.; Brocksom, T. J. *Quim. Nova* **2005**, 28, 692; c) Grubbs, R. H. *Tetrahedron* **2004**, 60, 7117.

⁸⁴ Aldhart, C.; Chen, P. J. *Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 3496.

A utilização de DDQ para remoção de grupos PMB é uma técnica bastante empregada na síntese orgânica.^{85,86} O mecanismo envolve uma oxidação via transferência de radicais através da formação de um complexo de transferência de carga, que, em seguida, sofre ataque da água e colapsa para formação do correspondente álcool e do *p*-metoxibenzaldeído (Esquema 20).⁸⁷



Esquema 20: Remoção oxidativa de grupo PMB utilizando DDQ.

A confirmação de obtenção do composto **122** foi realizada pela análise dos dados de IV, que apresentou uma banda referente ao grupo hidroxila (3402 cm^{-1}) e outra banda em 1712 cm^{-1} atribuída ao estiramento C=O. No espectro de ^1H -RMN notou-se o desaparecimento dos sinais referentes ao grupo *p*-metoxibenzila em 3,82 (ArOCH₃), 4,56 (OCH₂Ar), 6,86 (d, $J = 9,3\text{ Hz}$, ArH_m) e 7,23 (d, $J = 9,3\text{ Hz}$, ArH_o). O espectro de ^{13}C -RMN apresentou os seis sinais referentes ao composto **122**; em 163,9 (O₂CCH), 145,4 (CHCHCH₂), 120,7 (O₂CCHCH), 78,4 (CH₂CHCH₂), 63,7 (HOCH₂CH) e 25,3 ppm (CHCH₂CH) e também o desaparecimento dos sinais em 159,2, 129,6, 129,2, 113,7 e 73,1 ppm referentes ao grupo *p*-metoxibenzila.

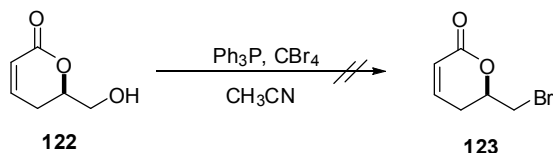
O álcool **122** seria então convertido no correspondente brometo **123** através do tratamento com PPh₃, CBr₄ em acetonitrila (Esquema 21). No entanto, o produto desejado não foi alcançado mesmo depois algumas tentativas e de ser

⁸⁵ Oikawa, Y.; Yoshioka, T.; Yonemitsu, O. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 885.

⁸⁶ a) Jackson, K. L.; Henderson, J. A.; Phillips, A. J. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 3044; b) Norcross, R. D.; Paterson, I. *Chem. Rev.* **1995**, 95, 2041.

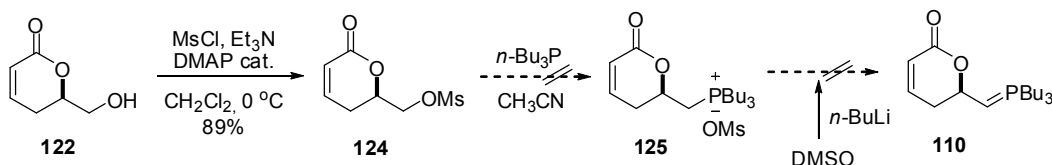
⁸⁷ Kociński, P. J. *Protecting Groups* 3ª Ed., Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 2005, página 10.

investida algumas modificações no procedimento experimental, como descrito em outros trabalhos.⁸⁸



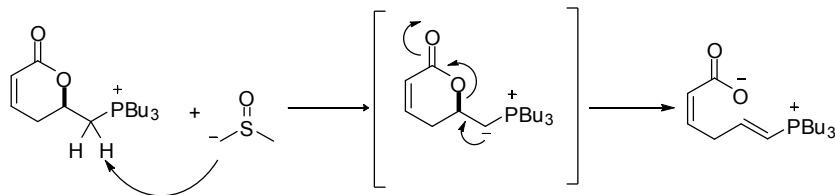
Esquema 21: Tentativa de preparação do brometo **123** a partir do álcool **122**.

Uma vez que o brometo **123** não teve sua síntese alcançada, decidiu-se converter a hidroxila primária da lactona **122** em um grupo mesilato que, em seguida, seria convertido na fosforana **110** (Esquema 22). A síntese do éter de mesila **124** foi alcançada após tratamento do álcool **122** com cloreto de mesila, na presença de Et₃N e quantidade catalítica de DMAP a 0 °C em 89% de rendimento (Esquema 22). No entanto, a síntese da fosforana **110** não foi alcançada a partir dessa metodologia.



Esquema 22: Síntese do mesilato **124** e tentativa de preparação da fosforana **110**.

A partir da observação da não formação do produto **110** e da ausência de material de partida recuperado na reação, tentamos racionalizar o que estava acontecendo no meio reacional e chegamos à conclusão que a base deveria estar retirando um dos hidrogênios α ao grupo fosfônio, fazendo com que ocorra uma abertura do anel lactônico, degradando o produto (Esquema 23).

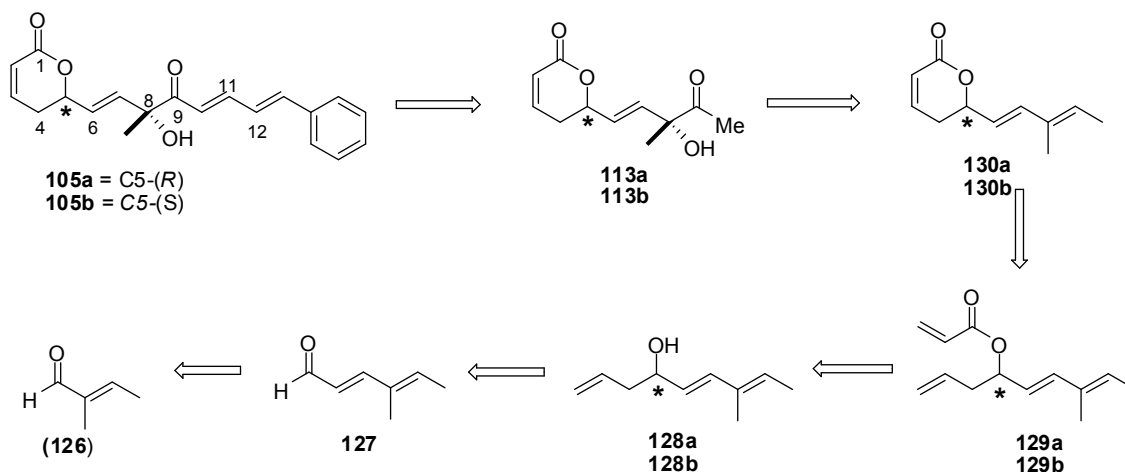


Esquema 23: Mecanismo para degradação dos compostos da reação de preparação de **110**.

⁸⁸ a) Meira, P. R. "Estudos Visando a Síntese Total da (-)-Calistatina A", Tese de doutorado, Instituto de Química – UNICAMP, 2003; b) Corrêa Jr, I. R. "Síntese total e elucidação estrutural da delactomicina", Tese de doutorado, Instituto de Química – UNICAMP, 2003.

Com base nesses resultados e levando em consideração que a reação de Wittig proposta poderia conduzir à formação de uma mistura de isômeros *E* e *Z*, decidimos reavaliar a nossa rota sintética inicialmente proposta (Esquema 12) com o claro objetivo de finalizar a síntese dos análogos **105a** e **105b** em quantidade suficiente para realização dos testes biológicos propostos.

Sob tal perspectiva, decidimos que a estrutura básica do análogo **105a** seria obtida conforme proposto inicialmente, proveniente da reação de condensação aldólica entre a metilcetona **113a** e o *trans*-cinamaldeído (**114**), no entanto, uma nova abordagem para preparação da metilcetona **113a** foi necessária. Nessa nova abordagem a metilcetona **113a** seria obtida através de uma sequência de reações que envolvem di-hidroilação assimétrica de Sharpless regio- e quimiosseletiva, seguida de oxidação do carbono C9 do composto **130a** (Esquema 24). Estratégia utilizando metátese de olefinas para fechamento de anel nos possibilitaria a obtenção da di-hidropiranona **130a** a partir do éster **129a**. Vale ressaltar que a etapa crítica nessa nova abordagem seria a reação de alilação assimétrica para obtenção do álcool homoalílico **128a**, precursor do éster **129a**. De maneira equivalente obteríamos o análogo **105b**.

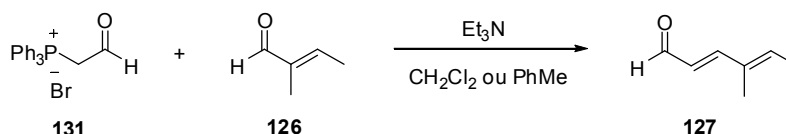


Esquema 24: Nova análise retrossintética para obtenção dos análogos **105a** e **105b**.

A reação entre ilídeos de fósforo e aldeídos e cetonas foi descoberta e desenvolvida por Georg F. K. Wittig na década de 60 e desde então se tornou um dos métodos mais usuais para construção de ligação C=C em compostos

orgânicos.⁸⁹ O mecanismo para a reação de Wittig é extensamente estudado, mas o favorecimento de formação de produtos com geometria *Z* e *E* ainda não está totalmente estabelecida, sendo conhecido que a utilização de íldeos estabilizados favorecem a formação de olefinas com geometria *E*.⁸⁹

Com base nisso, decidimos utilizar a reação de Wittig para formação do aldeído **127**, fazendo uso de um íldeo de fósforo estabilizado **131** e o aldeído tíglico (**126**) (Esquema 25). Inúmeras tentativas com diferentes condições experimentais foram testadas para essa reação, no entanto notava-se desaparecimento do material de partida e somente traços do produto desejado, com rendimento na ordem de 5 a 10%.



Esquema 25: Preparação do aldeído **127** via reação de Wittig com o íldeo estabilizado **131**.

Visando alcançar maiores rendimentos na obtenção do aldeído **127**, foi proposta uma síntese em três etapas a partir do aldeído tíglico (**126**), na qual envolveria uma reação de olefinação, seguida de redução da porção éster com DIBAL-H e concomitante oxidação para o aldeído desejado.

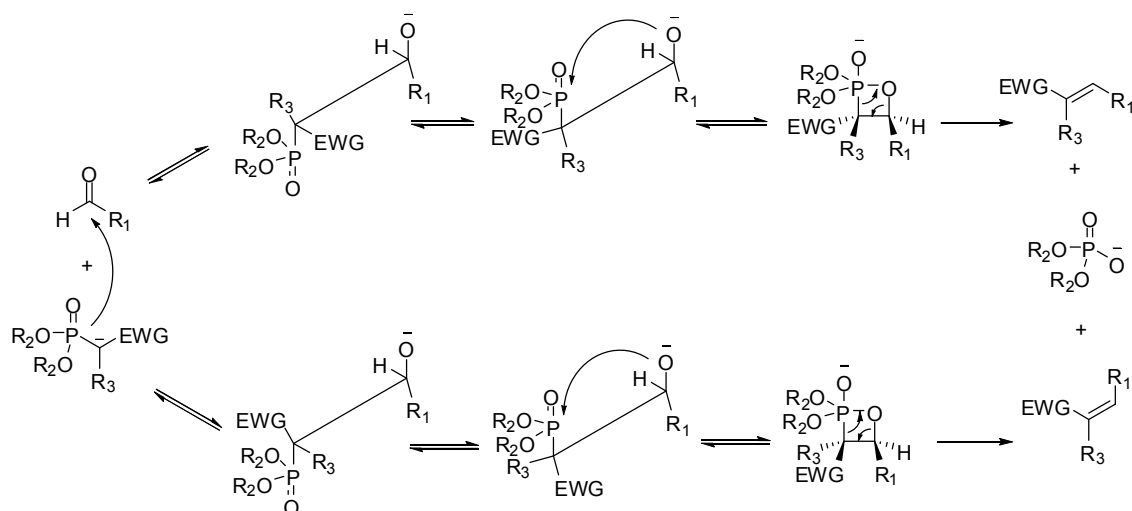
Iniciamos a síntese com a reação de Horner-Wadsworth-Emmons (HWE), uma variação à reação de Wittig, que em muitos casos apresenta maior estereosseletividade e maiores rendimentos.⁹⁰ Além disso, os subprodutos dessa reação são solúveis em água e são facilmente removidos no tratamento aquoso da reação, facilitando a purificação do produto (Esquema 26).

A reação HWE diferencia-se da reação de Wittig pelo fato de se utilizar um fosfonato estabilizado ao invés de uma fosforana. Normalmente os produtos formados são olefinas com geometria *E*, uma vez que é o produto termodinamicamente favorecido, no entanto também há metodologias descritas para se obter olefinas com geometria *Z*.^{25,91}

⁸⁹ Costa, P. R. R.; Pilli, R. A.; Pinheiro, S.; Vasconcelos, M. A. A. *Substâncias Carboniladas e Derivados*. Porto Alegre: Bookman, **2003**.

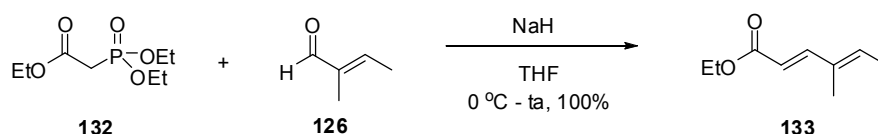
⁹⁰ Kelly, S. E. *Comprehensive Organic Synthesis*; Pergamon: Oxford, **1991**, 3, 755.

⁹¹ Ando, K. J. *Org. Chem.* **1997**, 62, 1934.



Esquema 26: Mecanismo proposto para reação HWE.

Sob tal perspectiva, utilizamos o fosfonoacetato de trietila (**132**) que na presença de NaH em THF, forneceu o ílideo de fósforo para reação com o aldeído tíglico (**126**) que conduziu à formação do éster **133** em rendimento quantitativo (Esquema 27).



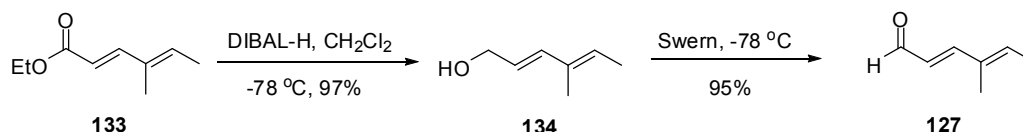
Esquema 27: Preparação do éster **133** através de reação HWE.

O produto pôde ser caracterizado pela análise do espectro de IV, o qual apresentou bandas em 1719 cm^{-1} , referente ao estiramento C=O da carbonila do éster conjugado, em 1680 e 1616 cm^{-1} , referentes aos estiramentos C=C das duplas ligações e em 1167 cm^{-1} , referente ao estiramento C-O do grupo etila. O espectro de ^1H -RMN apresentou os sinais em 5,70 (O_2CCHCH) e 7,24 ppm (O_2CCHCH) referentes aos hidrogênios da dupla ligação formada, ambos com $J=15,7\text{ Hz}$, confirmando a geometria *E* da dupla ligação. O espectro de ^{13}C -RMN apresentou um sinal 167,5 ppm, referente à carbonila do éster e quatro sinais em 115,2; 133,7; 136,2; 149,4, referentes aos carbonos sp^2 da molécula.

A redução do éster **133** foi alcançada pelo uso de DIBAL-H, o que conduziu a formação do álcool **134** em 97% de rendimento (Esquema 28). As tentativas de obtenção direta do aldeído **127**, através de redução parcial de **133** com DIBAL-H,

não produziram resultados satisfatórios, sendo uma mistura de **133**, **134** e **127** obtida na maioria dos casos.

A obtenção do álcool **134** foi evidenciada pelo desaparecimento da absorção da carbonila do éster no espectro de IV e aparecimento de uma banda em 3438 cm^{-1} , referente ao estiramento OH. O espectro de ^1H -RMN também confirmou a formação do produto que apresentou o sinal em 4,19 ppm (CHCH_2OH). No espectro de ^{13}C -RMN pode-se notar a formação do produto pelo aparecimento do carbono carbinólico em 63,6 ppm (CHCH_2OH) e o desaparecimento dos sinais em 167,6 (CHCO_2), 60,0 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}_2$) e 14,5 ppm ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}_2$), referentes ao éster.



Esquema 28: Obtenção do aldeído **127** a partir do éster **133**.

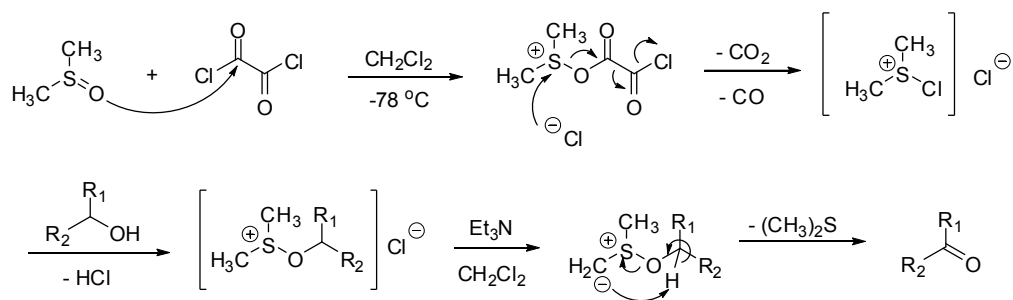
O álcool **134** foi oxidado sob as condições de Swern,⁹² com DMSO ativado por cloreto de oxalila a baixa temperatura, na presença de Et_3N e CH_2Cl_2 , fornecendo o aldeído **127** em 95% de rendimento (Esquema 28). A oxidação de Swern foi escolhida por ser um método brando e seletivo, não gerando produtos de sobreoxidação.

O mecanismo da reação de Swern é baseado na ativação do dimetilsulfóxido através da formação de um íon sulfônio intermediário, que ocorre devido ao ataque nucleofílico do oxigênio ligado ao enxofre a um nucleófilo, como cloreto de oxalila, levando nesse caso a perda espontânea de CO_2 e CO . Este intermediário sofre um ataque nucleofílico de um álcool primário ou secundário dando origem a um íon dimetil alcoxissulfônico que, por sua vez, reage com uma base produzindo o ílideo que se colapsa para o composto carbonílico via um processo cíclico intramolecular (Esquema 29).^{93, 94}

⁹² Mancuso, A. J.; Huang, S. L.; Swern, D. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2480.

⁹³ Mancuso, A. J. Swern, D. *Synthesis* **1981**, 165.

⁹⁴ Giagou, T.; Meyer, M. P. *J. Org. Chem.* DOI: 10.1021/jo101636w



Esquema 29: Mecanismo proposto para a oxidação de Swern.

A caracterização do aldeído **127** foi baseada em seu espectro de IV através das bandas de estiramento C(O)-H e C=O em 2730 e 1689 cm^{-1} . No espectro de ^1H -RMN notou-se o desaparecimento do sinal em 4,19 ppm (CHCH_2OH) do álcool **134** e o aparecimento do sinal em 9,46 ppm (CHO). O mesmo se comprova no espectro de ^{13}C -RMN, no qual apresenta um sinal em 192,8 ppm (CHO) e percebe-se o desaparecimento do sinal em 63,6 ppm (CHCH_2OH).

A próxima etapa da rota sintética visando à obtenção do análogo **105a** era a etapa crítica da síntese, a qual envolvia uma reação de alilação catalítica e assimétrica do aldeído **127** para conversão ao álcool alílico **128a** (Esquema 24). Como já havíamos utilizado anteriormente a reação de alilação de Keck e esta apresentou bons rendimentos e excessos enantioméricos (Esquema 17), resolvemos aplicar essa metodologia de alilação para obtenção do álcool alílico **128a**, no entanto, após 60h de reação não obtivemos o produto desejado em rendimento satisfatório e com recuperação de 60% do material de partida. Ainda com uso de (*R*)-BINOL como ligante quiral, utilizamos a metodologia de alilação descrita por Maruoka,⁹⁵ mas novamente não obtivemos resultados satisfatórios na obtenção do álcool alílico **128a**.

Após uma cuidadosa revisão dos trabalhos recentemente publicados para síntese enantiosseletiva de álcoois homoalílicos, encontramos uma publicação de Campagne e colaboradores para síntese da Macrolactina A.⁹⁶ Nessa publicação os autores visavam fazer uma reação de alilação catalítica e assimétrica num aldeído $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturado. Para isso, os autores utilizaram, inicialmente, o

⁹⁵ Hanawa, H.; Hashimoto, T.; Maruoka, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 1708.

⁹⁶ Georgy, M.; Lesot, P.; Campagne, J.-M. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 3543.

sorbaldeído como modelo e submeteram o aldeído a diferentes metodologias de alilação conhecidas na literatura. A metodologia que melhor se comportou para o seu sistema foi a desenvolvida por Yamamoto e colaboradores,⁹⁷ a qual faz uso de sais de prata e BINAP, obtendo-se 72% de rendimento e 87% de excesso enantiomérico, quando empregado 30 mol% do catalisador.

O mecanismo da reação de alilação de Yamamoto, bem como de qualquer outra metodologia de alilação assimétrica catalisada por ácido de Lewis, não está muito bem esclarecido. Todavia acredita-se que a reação pode ocorrer por duas vias distintas e estas vias conduzem a formação do mesmo produto. No primeiro caso, o catalisador se coordena ao oxigênio da carbonila e em seguida o nucleófilo ataca a carbonila pela face menos impedida, conduzindo a formação do álcool homoalílico (Figura 12, rota a). A outra possibilidade é quando acontece transmetalração e o grupo alil é inicialmente transferido para o catalisador que, por sua vez, liga-se ao oxigênio da carbonila e transfere de maneira intramolecular o grupo alila, fornecendo ao final o correspondente álcool homoalílico (Figura 12, rota b).^{97,98}

Em todos os exemplos descritos na literatura a utilização de (*R*)-BINAP conduz majoritariamente a formação do álcool homoalílico com estereoquímica derivada de um ataque à face *Re* do aldeído. Enquanto que o (*S*)-BINAP leva a formação do álcool homoalílico com estereoquímica derivada de um ataque à face *Si* do aldeído.⁹⁹

⁹⁷ Yanagisawa, A.; Nakashima, H.; Ishiba, A.; Yamamoto, H. *J. Am Chem. Soc.* 1996, 118, 4723.

⁹⁸ Yanagisawa, A.; Nakashima, H.; Nakatsuka, Y.; Ishiba, A.; Yamamoto, H. *Bull. Chem. Soc. Japan* 2001, 74, 1129.

⁹⁹ a) Naodovic, M.; Yamamoto, H. *Chem. Rev.* 2008, 108, 3132; b) de Fátima, A.; Robello, L. G.; Pilli, R. A. *Quim. Nova* 2006, 29, 1009.

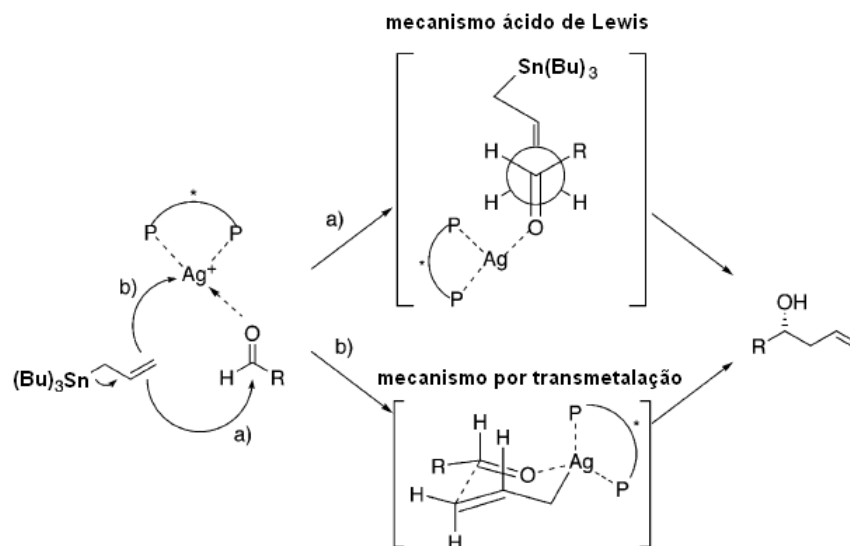
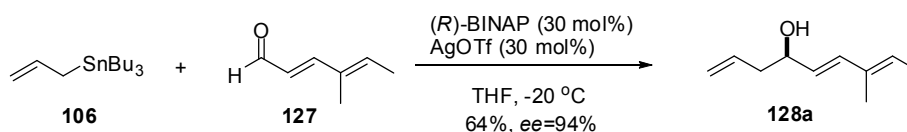


Figura 12: Mecanismo proposto para alilação nas condições de Yamamoto.

Com base nisso, decidimos submeter o aldeído **127** às condições de alilação segundo a metodologia desenvolvida por Yamamoto *et. al.*, empregando-se 30 mol% de AgOTf, 30 mol% de (*R*)-BINAP e aliltri-*n*-butilestanho (**106**) como agente alilante (Esquema 30). Dessa forma, a síntese do álcool homoalílico **128a** foi alcançada em 64% de rendimento e razão enantiomérica de 97:3, determinada por cromatografia gasosa com coluna quiral.

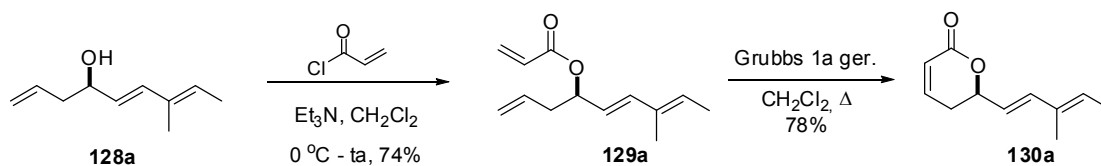


Esquema 30: Reação de alilação de Yamamoto para obtenção do álcool homoalílico **128a**.

A caracterização do álcool **128a** foi feita pelo espectro de IV, no qual apresentou uma banda em 3375 cm^{-1} , referente ao estiramento OH. No espectro de ^1H -RMN, percebemos claramente a incorporação do grupo alila na molécula pelo sinal em 2,33 ppm (CHCH_2COH), metileno alílico e pelo sinal em 4,21 ppm (q, $J = 6,3\text{ Hz}$, $\text{CHCH}(\text{OH})\text{CH}_2$). O mesmo foi evidenciado no espectro de ^{13}C -RMN pela presença dos sinais em 42,2 (CHCH_2OH), 72,0 ($\text{CHCH}(\text{OH})\text{CH}_2$), 118,1 (CH_2CHCH_2) e 134,4 ppm (CH_2CHCH_2). A análise do espectro de massas de alta

resolução indicou a presença do íon $[M-H_2O]^+$ em 134,1105. O valor da rotação óptica medido para o álcool homoalílico **128a** foi de + 20,0 (9,0; $CHCl_3$).

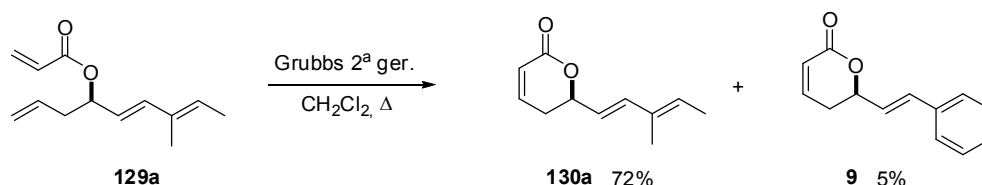
O álcool **128a** foi esterificado com cloreto e acrilóila na presença de Et_3N em diclorometano, fornecendo o éster **129a** em 74% de rendimento (Esquema 31). A incorporação do grupo acrilato foi evidenciada pelo desaparecimento da banda de absorção OH em 3375 cm^{-1} no espectro de IV e pelo aparecimento de banda em 1728 cm^{-1} , referente ao estiramento C=O do éster α,β -insaturado. No espectro de 1H -RMN notou-se o deslocamento do sinal referente ao carbono carbinólico para campo mais baixo, de 4,21 ppm (q, $J = 6,3\text{ Hz}$) no álcool para 5,61 ppm no éster. As atribuições dos dados espectroscópicos foram amparadas pelas correlações de COSY. No espectro de ^{13}C -RMN evidenciou-se a presença do sinal em 165,4 ppm ($CHCHCO_2$). A análise do espectro de massas de alta resolução indicou a ocorrência do íon $[M-72]^+$ em 134,1060, correspondente a perda grupo carboxilato do íon molecular, cujo valor de m/z foi calculado como sendo 206,1307 para $C_{13}H_{18}O_2$. O éster **129a** apresentou $[\alpha]_D^{25} = -11,0$ (c 7,0; $CHCl_3$).



Esquema 31: Preparação do éster **129a** da lactona **130a**.

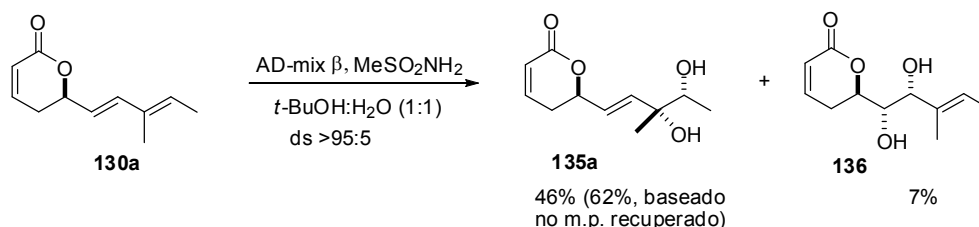
A obtenção da lactona **130a** foi alcançada a partir da reação de metátese de olefinas para fechamento de anel, utilizando 10 mol% do catalisador de Grubbs de 1ª geração, em 78% de rendimento (Esquema 31). O espectro de 1H -RMN apresentou dois sinais bastante característicos para formação da lactona, em 6,03 (dt, $J = 9,8$ e $1,6\text{ Hz}$, $CH_2CHCHCO_2$) e 6,88 ppm (dt, $J = 9,8$ e $4,2\text{ Hz}$, $CH_2CHCHCO_2$). No espectro de ^{13}C -RMN evidenciou-se o deslocamento do sinal em 165,4 ppm, referente à carbonila do éster **129a**, para 164,2 ppm, relacionado à carbonila da lactona **130a**. O IV apresentou uma banda de absorção C=O em 1724 cm^{-1} . A análise do espectro de massas de alta resolução indicou a ocorrência do íon molecular $178,0994\text{ [M]}^+$, cujo valor foi calculado como sendo 178,0978 para $C_{13}H_{18}O_2$. O valor $[\alpha]_D^{25}$ para lactona **130a** foi + 89,0 (c 1,0; $CHCl_3$).

Vale ressaltar que para a essa mesma reação de metátese de olefinas foi testado o catalisador de Grubbs de 2ª geração (Figura 11), acreditando que o rendimento da reação poderia ser aumentado. No entanto, verificamos que o uso desse catalisador conduzia à formação da lactona **130a** em 72% de rendimento e 5% de goniotalamina como subproduto, oriundo de uma metátese cruzada entre o produto formado **130a** com o catalisador de Grubbs (Esquema 32).



Esquema 32: Produtos da reação metátese utilizando Grubbs de 2ª geração.

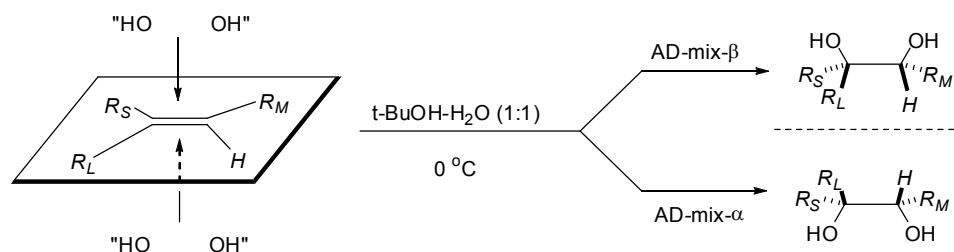
De posse da lactona **130a** fomos investigar a reação de di-hroxilação assimétrica de Sharpless para obtenção do diol **135a**, precursor da metilcetona **113a**. Após uma cuidadosa busca na literatura para a reação de di-hidroxição com um substrato que pelo menos se aproximasse em termos estruturais e de reatividade ao nosso, encontramos dois trabalhos independentes que visavam a síntese da fostriecina em 2002.^{20,100} Aplicando-se as mesmas condições experimentais para nosso substrato **130a**, as quais consistiam no uso de 2g de AD mix-β para cada 1 mmol de olefina e 2 equivalentes molar de MeSO₂NH₂, tudo dissolvido numa mistura de *t*-BuOH:H₂O (1:1) a 0 °C. Após 8 horas de reação, obtivemos 46% de rendimento do produto desejado **135a** e 7% do produto **136**, oriundo da di-hidroxição da dupla ligação C6-C7, além de 26% de material de partida que foi recuperado (Esquema 33).



Esquema 33: Produtos da reação de di-hidroxição do composto **130a**.

¹⁰⁰ Wang, Y. G.; Kobayashi, Y. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4615.

Cabe salientar que a escolha do AD mix- β para essa reação foi devido ao modelo proposto por Sharpless, no qual o ataque pela face β da dupla ligação conduziria ao produto com a estereoquímica desejada (Esquema 34).⁷¹



Esquema 34: Modelo de Sharpless para determinação da face da dupla ligação.

Essa reação foi realizada por diversas vezes e o melhor resultado foi encontrado nessas condições experimentais acima descritas,¹⁰¹ que inviabilizava a continuação da rota sintética. Na tentativa de buscar uma explicação plausível para o ocorrido, resolvemos buscar na literatura situações análogas de insucesso para a reação de di-hidroxição assimétrica de Sharpless. Em 1998, Hermitage e colaboradores publicaram um artigo que mencionava o uso do “super” AD-mix como alternativa para di-hidroxição de duplas ligações estericamente impedidas e/ou pouco reativas.¹⁰² A mistura “super” AD-mix possui a mesma formulação que o AD mix comercialmente disponível, diferindo pelo fato que a quantidade do ligante é aumentada para 10 mol% e trocou-se o oxidante catalítico $K_2OsO_2(OH)_4$ para OsO_4 numa quantidade de 8 a 10 mol%.¹⁰²

O uso do “super” AD-mix já foi utilizado em outros trabalhos para síntese total. Em 2006, Kumar e colaboradores aplicaram a nova formulação do AD mix na síntese da (-)-deoxocassina e em 2008, Hatakeyama e colaboradores utilizaram a mistura numa das etapas da síntese da foslactomicina B.¹⁰³

Com base nesses resultados, utilizamos a mistura do “super” AD-mix na reação de di-hidroxição do composto **130a** e assim, a síntese do diol **135a** foi

¹⁰¹ O tratamento clássico com sulfito de sódio levava a degradação dos produtos de reação, então o tratamento foi realizado utilizando cloreto de sódio sólido.

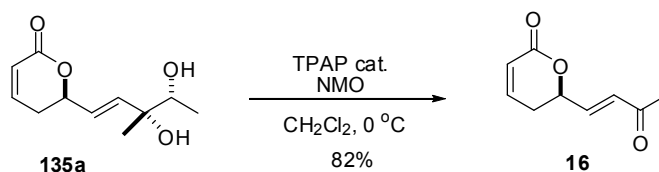
¹⁰² Hermitage, S. A.; Murphy, A.; Nielsen, P.; Roberts, S. M. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 13185.

¹⁰³ a) Kumar, P.; Kandula, S. R. V. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 9942; b) Shibahara, S.; Fujino, M.; Tashiro, Y.; Takahashi, K.; Ishihara, J.; Hatakeyama, S. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2139

alcançada em 74% de rendimento e diastereosseletividade > 95:5. Não foi observada formação do composto **136** quando utilizado o “super” AD-mix. O espectro de IV apresentou uma banda de estiramento OH em 3442 cm⁻¹. No espectro de ¹H-RMN percebeu-se o aparecimento do sinal em 3,64 ppm (CH₃CH(OH)C). O espectro de ¹³C-RMN apresentou os sinais dos novos carbonos carbinólicos em 72,9 e 75,0 ppm, este último referente ao carbono do centro quaternário. O espectro de massas de alta resolução indicou a presença do íon [M-36]⁺ em 176,0796 e a rotação óptica do composto **135a** foi de + 49,0 (c 1,0; CHCl₃).

O composto **136** também foi prontamente caracterizado pela análise do espectro de ¹H-RMN, o qual apresentou os três sinais referentes aos metinos do composto em δ 3,88 (t, *J* = 5,3 Hz, CH₂CHCHCH), 4,14 (d, *J* = 5,3 Hz, CH₂CHCHCH) e 4,43 ppm (dt, *J* = 12,0 e 9,3 Hz, CH₂CHCHCH). O espectro de massa de alta resolução também indicou a presença do íon [M-36]⁺ em 176,0813.

Tendo alcançado êxito na preparação do composto **135a**, este foi submetido às condições de oxidação de Ley,¹⁰⁴ a qual emprega o uso de perrutenato de tetrabutilamônio como agente oxidante em quantidade catalítica e NMO como co-oxidante do meio, em CH₂Cl₂. Após 30 minutos de reação, observou-se total consumo do material de partida. A caracterização espectroscópica do produto obtido mostrou-se tratar-se da metilcetona **16** em 86% de rendimento, oriunda de uma reação de clivagem oxidativa (Esquema 35).



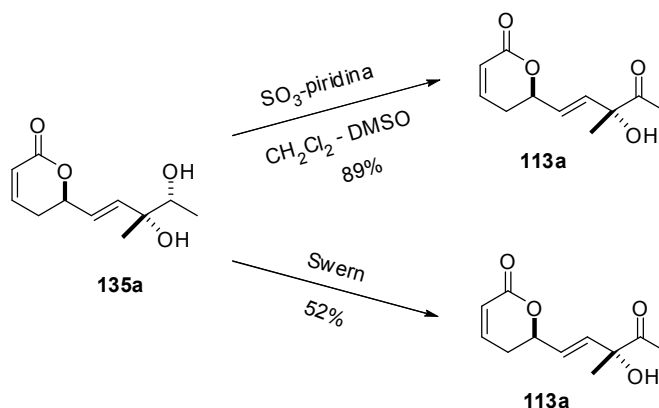
Esquema 35: Obtenção do composto **16** através de clivagem oxidativa do diol **135a**.

O espectro de ¹³C-RMN do composto **16** apresentou os nove sinais referentes aos carbonos da molécula, sendo que em 162,9 e 197,5 ppm aparecem os carbonos carbonílicos da lactona e da cetona, respectivamente e não notou-se a presença de nenhum carbono quaternário. O espectro de massas de alta

¹⁰⁴ Griffith, W. P.; Ley, S. V.; Whitcombe, G. P.; White, A. D. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 3291.

resolução indicou a presença do íon molecular em $166,0605 \text{ [M]}^+$. O valor da rotação óptica para o composto **16** foi $+207$ (c 1,0; CHCl_3) [lit.^{14c} $+201$ (c 0,11; CHCl_3)]. O dado de rotação óptica confirmou a estereoquímica absoluta do centro estereogênico em C5.

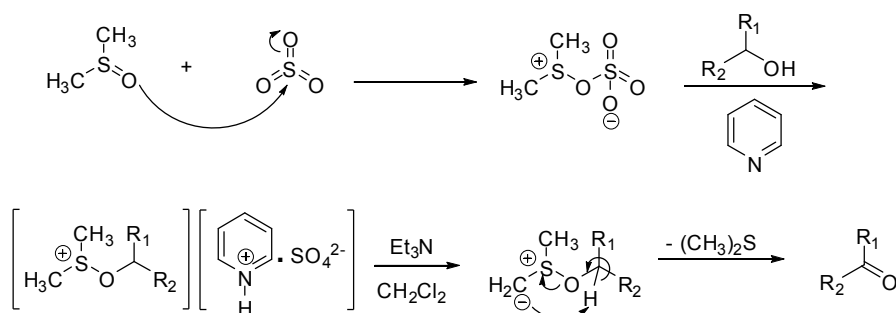
Nova tentativa, dessa vez utilizando a oxidação nas condições de Swern forneceu a metilcetona desejada **113a** em 52% de rendimento e 38% de recuperação do material de partida (Esquema 36). Alternativamente, decidimos utilizar as condições de oxidação de álcoois de Parikh-Doering,¹⁰⁵ o qual faz uso do complexo SO_3 -piridina e Et_3N numa mistura de DMSO e CH_2Cl_2 . Após três horas de reação, o composto **113a** foi obtido em 89% de rendimento (Esquema 36).



Esquema 36: Métodos de oxidação para obtenção da metilcetona **113a**.

O mecanismo da reação de Parikh-Doering é muito parecido com o mecanismo da reação de Swern, ocorrendo inicialmente a ativação do DMSO para formação de um íon sulfônio intermediário, dessa vez por uso do trióxido de enxofre. Em seguida, o álcool primário ou secundário realiza um ataque nucleofílico dando origem a um íon dimetil alcoxissulfônico, que, da mesma maneira que na oxidação de Swern, reage com uma base produzindo o ílideo que se colapsa para o composto carbonílico via um processo cíclico intramolecular (Esquema 37).

¹⁰⁵ a) Parikh, J. P.; Doering, W. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 5505; b) Tidwell, T. T. *Org. React.* **1990**, 39, 297.



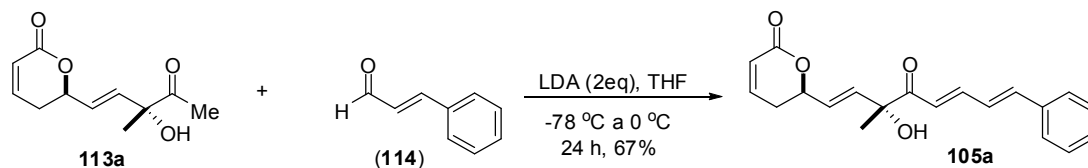
Esquema 37: Mecanismo proposto para oxidação de Parikh-Doering.

A caracterização da metilcetona **113a** foi feita pelo espectro de IV, que apresentou uma banda de estiramento C=O em 1713 cm^{-1} e uma banda de estiramento OH em 3454 cm^{-1} . No espectro de ^1H -RMN percebeu-se o aparecimento do sinal em 2,25 ppm ($\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{C}$) e o desaparecimento do sinal em 3,64 ppm ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{C}$). O espectro de ^{13}C -RMN apresentou o sinal em 208,6 ($\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{C}$) e notou-se o desaparecimento do sinal em 72,9 ppm, referente ao carbono carbinólico no diol **135a**. O espectro de massas de alta resolução indicou a presença do íon $[\text{M}-18]^+ = 192,0787$. O composto **113a** apresentou valor de $[\alpha]_D^{25} = -128$ ($c\ 8,1$; CHCl_3).

Tendo conseguido êxito na preparação do composto **113a** que, em especial apresenta os dois centros estereogênicos em C5 e C8, a dupla ligação de geometria *E* entre os carbonos C6-C7 e, particularmente, o sistema di-hidropirânico, voltamos nossa atenção para finalização da síntese do análogo simplificado de fostriecina **105a**.

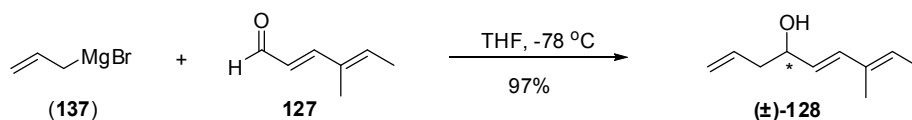
Para isso o intermediário **113a** foi submetido às condições de condensação aldólica com o *trans*-cinamaldeído (**114**), na presença de LDA de $-78\text{ }^\circ\text{C}$ até $0\text{ }^\circ\text{C}$, fornecendo o produto desejado **105a** em 67% de rendimento (Esquema 38). O produto foi caracterizado pela análise do espectro de ^1H -RMN, através do qual ficou evidente o desaparecimento do sinal em 2,25 ppm ($\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{C}$) da metilcetona **113a** e o surgimento dos sinais olefínicos em 6,57 ($\text{C}(\text{O})\text{CHCHCHCHAr}$), 7,01 ($\text{C}(\text{O})\text{CHCHCHCHAr}$), 7,06 ($\text{C}(\text{O})\text{CHCHCHCHAr}$) e 7,64 ppm ($\text{C}(\text{O})\text{CHCHCHCHAr}$), além dos sinais na região de 7,27 – 7,53 ppm, referentes aos hidrogênios aromáticos. O espectro de massas de alta resolução

apresentou o íon $[M-18]^+$ em 306,1360. O valor da rotação óptica foi de + 74 (c 1,0; $CHCl_3$).



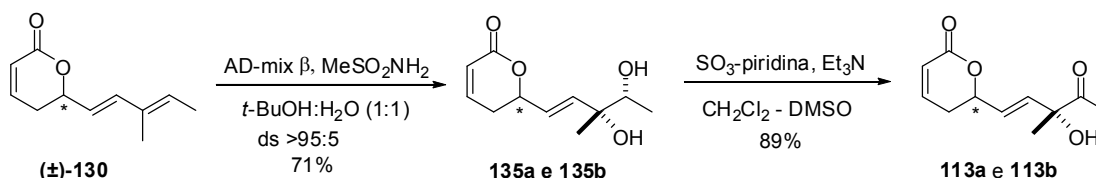
Esquema 38: Preparação do composto **105a**.

A síntese do outro análogo **105b** foi alcançada de maneira equivalente, todavia, como tivemos um rendimento moderado na reação de alilação (64%) e a mesma faz uso de 30 mol% de BINAP quiral, então decidimos fazer a reação de alilação do aldeído **127** com brometo de alilmagnésio (**137**) e obtivemos o álcool $(\pm)$ -**128** em 97% de rendimento (Esquema 39).



Esquema 39: Alilação racêmica do aldeído **127** utilizando brometo de alilmagnésio.

A rota sintética teve continuidade com a mistura racêmica até a obtenção da lactona $(\pm)$ -**130**, seguindo-se então a di-hidroxilação assimétrica, utilizando $(DHQD)_2$ -PHAL como ligante quiral da reação, obtendo-se uma mistura de dióis diastereoisômeros (Esquema 40). Essa mistura não foi passível de separação, então foi submetida à reação de oxidação com o complexo SO_3 -piridina e Et_3N em CH_2Cl_2 , obtendo-se a mistura de cetonas como uma mistura diastereoisomérica, que foi separada por HPLC preparativo nas metilcetonas **113a** e **113b** (Figura 13).



Esquema 40: Preparação dos diastereoisômeros **113a** e **113b**.

Comparação dos dados espectroscópicos da metilcetona **113a**, obtida via rota sintética totalmente assimétrica, estão de acordo com os dados do composto

obtido por separação cromatográfica. A metilcetona **113b** teve valor de rotação óptica de $-3,0$ (c 8,0; CHCl_3).

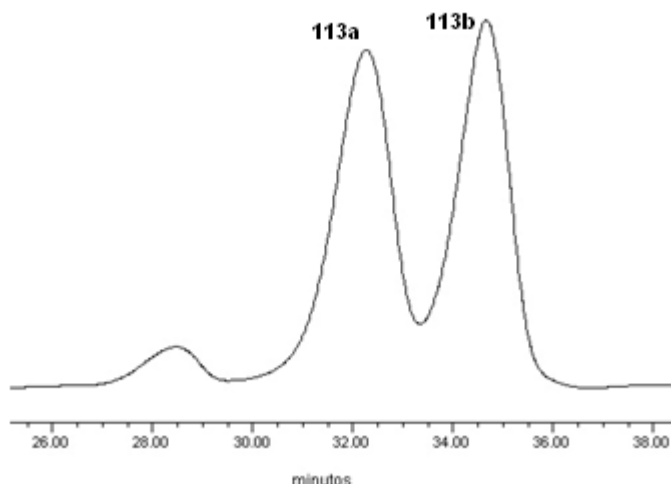
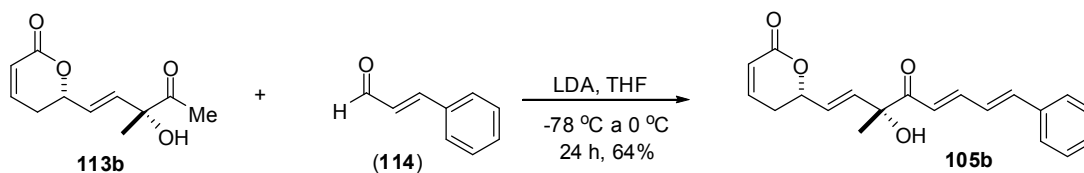


Figura 13: Cromatograma do HPLC preparativo dos compostos **113a** e **113b**. Coluna Sunfire™ preparativa de sílica OBD™ (19 mm x 100 mm x 5 μm); eluente: hexano/isopropanol/metanol (95:3:2 v/v); fluxo: 17 mL/min.; λ_{max} : 216 nm; detector com arranjo de diodo.

De modo equivalente à obtenção do composto **105a**, o produto de condensação aldólica **105b** teve sua síntese alcançada em 64% de rendimento, após tratamento da metilcetona **113b** com LDA, seguida da adição do *trans*-cinamaldeído (**114**), variando a temperatura de $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h (Esquema 41).

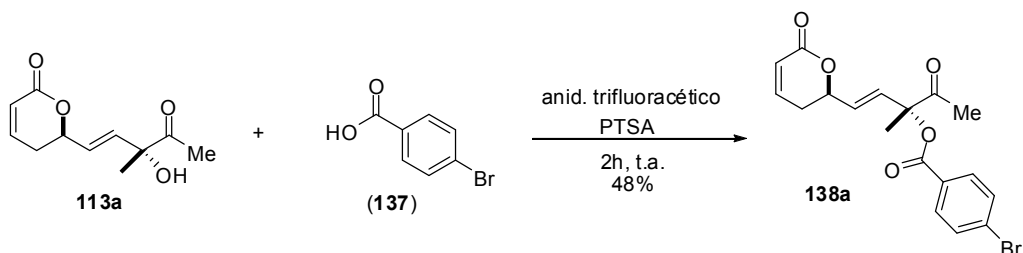


Esquema 41: Preparação do composto **105b**.

4.2. Determinação da configuração absoluta dos produtos

Nesse estágio do trabalho, a comprovação da estereoquímica absoluta dos produtos ora sintetizados era imprescindível. Para isso, inicialmente, propusemos a síntese do derivado bromado **138a** a partir da metilcetona **113a** e do ácido *p*-bromobenzoico (**137**), utilizando o protocolo descrito por Cabeza e

colaboradores¹⁰⁶ (Esquema 42), com o intuito de se obter um composto cristalino e lançando mão da técnica de difração de raios-X determinar a estereoquímica absoluta do composto. No entanto, após algumas tentativas de cristalização do composto, não foi possível se obter um monocristal necessário para aferir a medida.

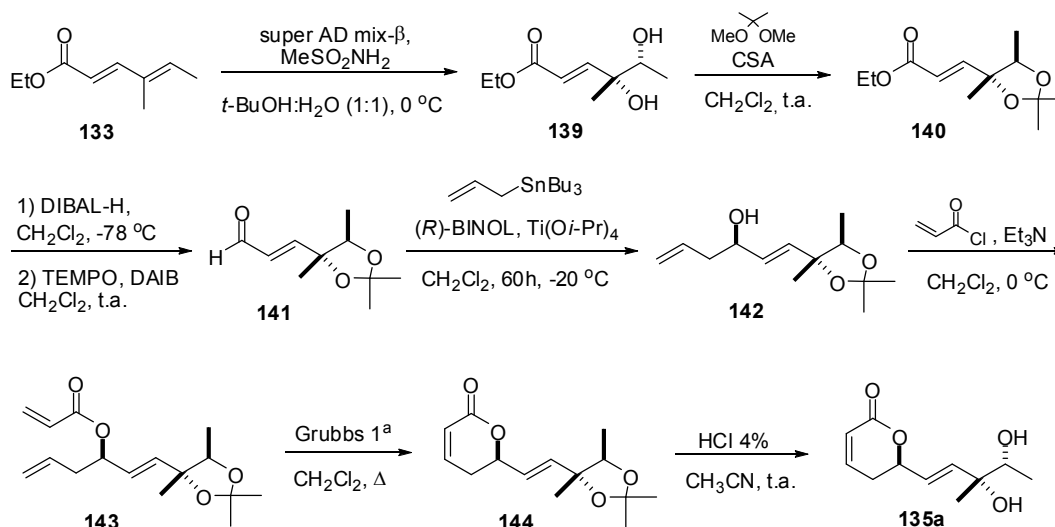


Esquema 42: Preparação do composto **138a**.

Dos dois centros estereogênicos adjacentes encontrados em **113a**, a configuração absoluta de C5 já havia sido estabelecido com a obtenção do composto **16**, já descrito na literatura. No entanto, nos restava determinar a configuração do centro quaternário em C8. Dado que as tentativas de obtenção do cristal **138a** foram frustradas, fez-se necessária a obtenção do diol **135a** por uma rota de síntese que permitisse passar por um intermediário que já possuísse o centro quaternário com a configuração estabelecida e através da comparação dos dados espectroscópicos e de rotação óptica estabelecer a configuração absoluta dos centros estereogênicos do composto **135a**.

Com esse intuito, o diol **135a** foi sintetizado em oito etapas a partir do éster **133** conforme sequência apresentada no Esquema 43. Essa rota sintética também emprega o éster **133** como precursor inicial para obtenção dos compostos finais.

¹⁰⁶ Bratoeff, E.; Ramirez, E.; Flores, E.; Valencia, N.; Sanchez, M.; Heuze, I.; Cabeza, M. *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51*, 1132.



Esquema 43: Nova rota sintética para obtenção do diol **135a**.

Em 2001, Carreira e Tholander¹⁰⁷ publicaram a síntese do fragmento C33-C37 da anfotericina B e a primeira reação da síntese desse fragmento foi a conversão do éster α,β -insaturado **133** no diol **139** em 68% de rendimento e 99% ee. Aplicamos a metodologia do “super” AD mix- β e a síntese do diol **139** foi alcançada em 56% de rendimento (Esquema 43). No espectro de ^1H -RMN nota-se o desaparecimento do sinal em 5,91 ppm (q, $J=7,0$ Hz, $\text{CH}_3\text{CHC}^\#$) e o aparecimento do sinal em 3,67 ppm (q, $J=6,4$ Hz, CH_3CHOH), além dos sinais em 2,81 e 2,90 ppm, referentes às hidroxilas do composto. No espectro de ^{13}C -RMN percebe-se a formação do produto **139** pelo aparecimento dos carbonos carbinólicos em 72,6 (CH_3CHCCH) e 75,4 ppm (CH_3CHCCH). O composto **139** apresentou $[\alpha]_D^{25} = -8,0$ (c 1,0; CH_2Cl_2) (lit.¹⁰⁷ $[\alpha]_D^{25} = -6,3$ (c 0,98; CH_2Cl_2). Uma vez comparado os dados do composto **139** obtido com os dados descritos na literatura, podemos assegurar que o centro quaternário presente no composto possui configuração *R*.

O diol **139** teve então suas hidroxilas protegidas na forma de acetonídeo, utilizando 2,2-dimetoxipropano e CSA em CH_2Cl_2 , fornecendo o composto **140** em 90% de rendimento (Esquema 43). O espectro de ^1H -RMN apresentou os dois singletos em 1,35 e 1,45 ppm, cada um integrando para três hidrogênios,

¹⁰⁷ Tholander, J.; Carreira, E. M. *Helv. Chem. Acta* **2001**, *84*, 613.

referentes aos dois CH₃ do acetônio. O espectro de ¹³C-RMN apresenta os três carbonos do acetônio em 26,3; 28,3 e 107,8 ppm. O valor de rotação óptica para o composto **140** foi - 43,0 (c 1,5; CHCl₃).

Dando continuidade a rota sintética, o composto **140** foi reduzido com DIBAL-H em CH₂Cl₂ a -78 °C fornecendo o álcool correspondente que foi oxidado imediatamente, sem prévia purificação, utilizando TEMPO em quantidade catalítica e BAIB como co-oxidante, para fornecer o aldeído **141** em 91% de rendimento para as duas etapas (Esquema 43). O produto foi caracterizado por ¹H-RMN, o qual apresentou um sinal em 9,41 ppm (d, *J* = 7,6 Hz, CHCHCHO). O espectro de ¹³C-RMN também apresentou o sinal referente à carbonila do aldeído em 192,0 ppm (CHCHCHO). O espectro de IV mostrou bandas de absorção em 2733 cm⁻¹, referente ao estiramento C-H do aldeído e em 1695 cm⁻¹, referente ao estiramento C=O.

Alilação catalítica e assimétrica nas condições propostas por Keck e colaboradores foi escolhida para ser usada como próxima etapa da síntese a partir do aldeído **141**. Assim a síntese do álcool homoalílico **142** foi alcançada com razão diastereoisomérica entre os produtos formados de 84:16. Não foi possível se determinar o rendimento dessa etapa isolada, uma vez que o produto apresentava mesmo *Rf* que a sobra de BINOL da reação, inviabilizando sua purificação. Ainda assim foi possível caracterizar o produto por ¹H-RMN, no qual nota-se a presença dos sinais em 2,32 ppm, referente ao metileno alílico e 4,20 ppm (q, *J* = 5,1 Hz, CHCH(OH)CH₂), além do desaparecimento do sinal em 9,41 ppm (d, *J* = 7,6 Hz, CHCHCHO) do aldeído **141**. O espectro de ¹³C-RMN também apresentou os sinais em 41,9 (CHCH₂CH) e 78,3 ppm (CHCH(OH)CH₂) e o desaparecimento do sinal da carbonila do aldeído em 192,0.

O álcool **142** foi prontamente convertido ao éster **143** através de reação com cloreto de acrilóila e Et₃N em CH₂Cl₂, fornecendo o éster **143** em 52% de rendimento para as duas etapas (alilação e esterificação) (Esquema 43). O éster **143** foi caracterizado por ¹H-RMN, onde no espectro consta o deslocamento do sinal em 4,20 ppm (q, *J* = 5,1 Hz, CHCH(OH)CH₂) no álcool para 3,88 ppm no

éster. O espectro de ^{13}C -RMN apresentou o sinal em 165,2 ppm, referente à carbonila do éster. O éster **143** apresentou $[\alpha]_D^{25} = -17,0$ (c 1,3; CHCl_3).

A síntese da lactona **144** foi alcançada em 80% de rendimento através da reação de metátese de olefinas para fechamento de anel, utilizando catalisador de Grubbs de 1ª geração, a partir do éster **143** (Esquema 43). O produto da reação foi caracterizado pela análise do espectro de ^1H -RMN, que apresentou dois sinais bastante característicos para formação da lactona, em 6,03 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz, $\text{CH}_2\text{CHCHCO}_2$) e 6,87 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{CHCHCO}_2$). No espectro de ^{13}C -RMN evidenciou-se o deslocamento do sinal em 165,2 ppm, referente à carbonila do éster **143**, para 163,8 ppm, relacionado à carbonila da lactona **144**.

Remoção do acetonídeo do composto **144** possibilitou a obtenção do diol **135a** em 72% de rendimento, utilizando HCl 4% em CH_3CN a temperatura ambiente por 30 minutos (Esquema 43). Os dados de ^1H -RMN e ^{13}C -RMN desse composto estão de acordo com os obtidos pela rota sintética que conduziu ao produto de condensação aldólica **105a**. O valor da rotação óptica foi + 45,0 (c 1,0; CHCl_3) e o valor obtido anteriormente foi de + 49,0 (c 1,0; CHCl_3). Para finalizar a determinação da configuração absoluta dos centros estereogênicos dos compostos sintetizados, o composto **135a** obtido pela rota sintética descrita no Esquema 43 foi submetido a uma reação de clivagem oxidativa com NaIO_4 em CH_2Cl_2 , o que conduziu à formação da metilcetona **16** em 84% de rendimento. Novamente os dados espectroscópicos foram idênticos aos obtidos anteriormente para o mesmo composto, merecendo destaque o valor da rotação óptica que foi de + 199 (c 1,0; CHCl_3).

Com isso podemos afirmar que tanto o modelo de Yamamoto para reação de alilação (Esquema 30), quanto o modelo de Sharpless para reação de di-hidroxilação (Esquema 32), conduziram à formação dos produtos com a estereoquímica condizente ao modelo proposto.

4.3. Estudos de atividade biológica

4.3.1. Atividade Antiproliferativa

É sabido que compostos contendo na sua estrutura a porção 5,6-di-hidro-2*H*-piran-2-ona podem agir como aceptores de Michael e atuar em sistemas biológicos por meio de reação com resíduos de cisteína de proteínas celulares e em muitos casos estão relacionados com processos onde envolve morte e/ou proliferação celular.⁸⁻¹¹ Pilli e de Fátima relataram atividade antiproliferativa para diversos compostos contendo o sistema 5,6-di-hidro-2*H*-piran-2-ona, merecendo destaque para os resultados da (*S*)-goniotalanina na linhagem de célula tumores renais 786-0.¹⁰

De posse disso, foram selecionados todos os compostos preparados que apresentaram a porção di-hidropirânica na sua estrutura: a lactona **(±)-130**, o diol **(±)-135**, as metilcetonas **113a** e **113b** e os análogos **105a** e **105b**. Os compostos foram submetidos a testes de atividade antiproliferativa *in vitro* visando avaliar a atividade citotóxica para 10 linhagens de células tumorais humanas: glioma de sistema nervoso central (U251), melanoma (UACC-62), mama (MCF7), ovário resistente (NCI/ADR), rins (786-0), pulmão (NCI-460), próstata (PC-03), ovário (OVCAR-03), cólon (HT-29) e leucemia (K562) e célula epitelial normal de rim de macaco verde (VERO). Os testes com as linhagens U251, UACC-62, OVCAR-03 e K562 foram realizados somente para os compostos **(±)-130**, **(±)-135**, **113a** e **113b**. A proliferação celular foi determinada utilizando-se o ensaio colorimétrico com sulforodamina B. Utilizou-se a doxorrubicina como controle positivo. As concentrações empregadas variaram entre 0,250-250 µg.mL⁻¹ e a porcentagem de crescimento foi determinada após 48h da tratamento de células. Os ensaios foram realizados em colaboração com o Dr. João Ernesto de Carvalho do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da UNICAMP.

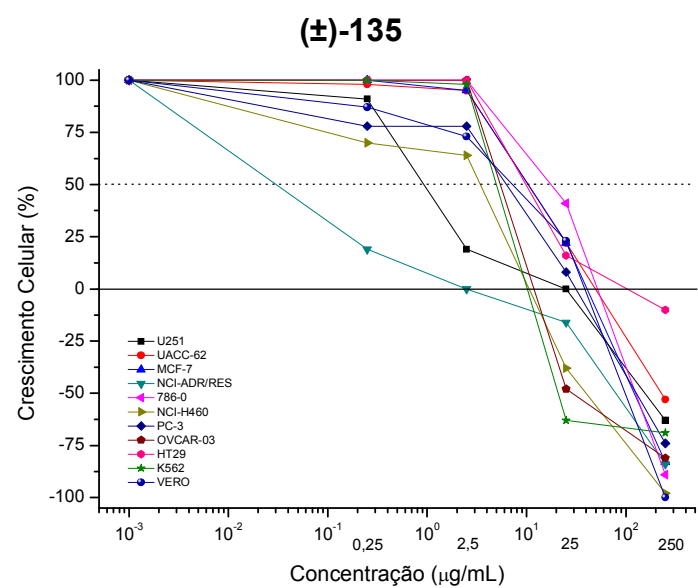
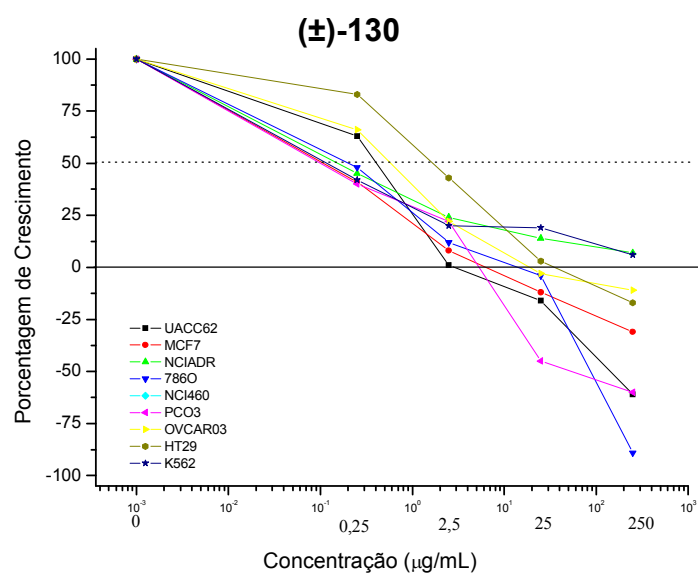


Figura 14: Porcentagem de crescimento de células de câncer humano após 48h na presença de diferentes concentrações de (±)-130 e (±)-135.

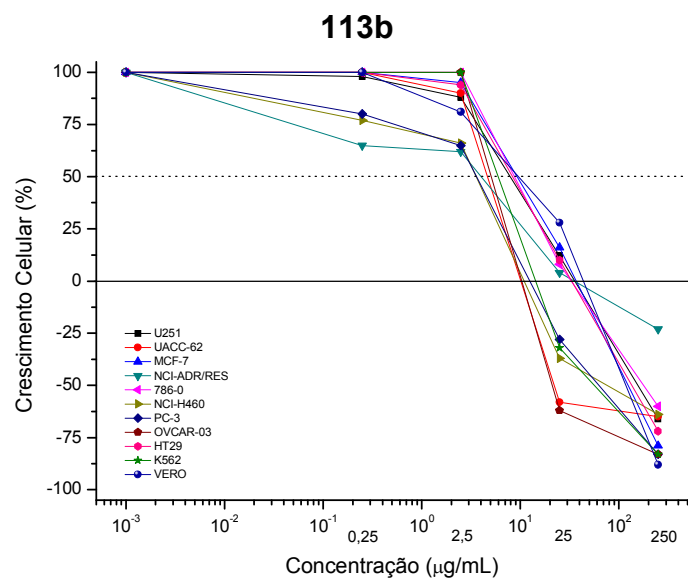
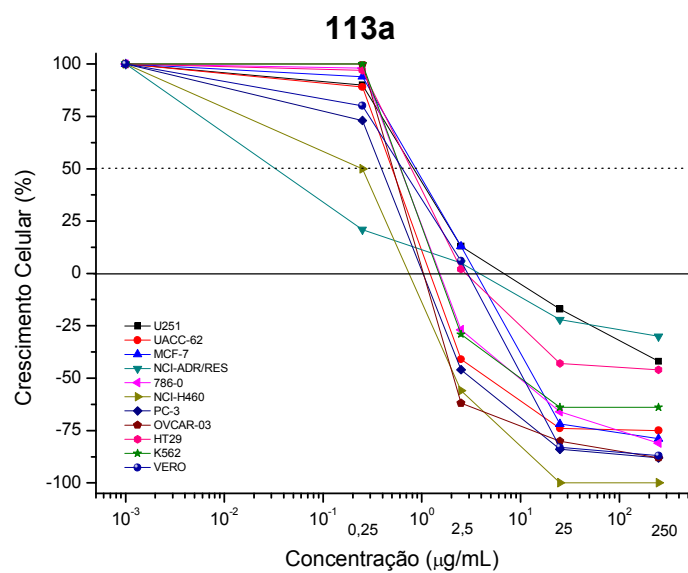


Figura 15: Porcentagem de crescimento de células de câncer humano após 48h na presença de diferentes concentrações de **113a** e **113b**.

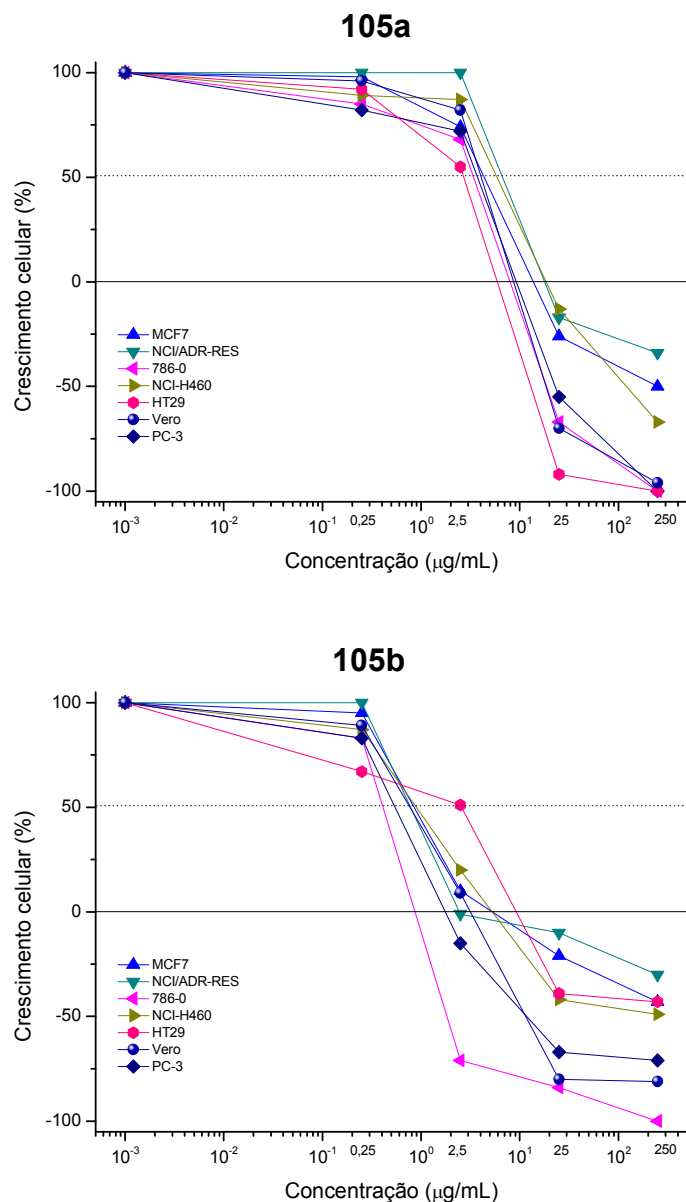


Figura 16: Porcentagem de crescimento de células de câncer humano após 48h na presença de diferentes concentrações de **105a** e **105b**.

Os gráficos apresentados nas Figuras 14, 15 e 16 ilustram de maneira simplificada a curva dose resposta dos compostos **(±)-130**, **(±)-135**, **113a**, **113b**, **105a** e **105b** frente a várias linhagens de células tumorais humanas. Os valores positivos de crescimento celular entre 0 e 100%, em relação ao eixo y, correspondem à atividade citostática (inibição de crescimento) enquanto os valores negativos à atividade citocida.

A partir desses gráficos, pode-se calcular o valor de TGI para cada linhagem celular. O TGI é o valor que representa a concentração mínima que causa a inibição total do crescimento celular. Esse novo parâmetro vem sendo utilizado pelo NCI (National Cancer Institute) e a grande vantagem dele é pode ser obtido por uma leitura direta dos gráficos de curva dose resposta. Além disso, para o tipo de estudo que estamos realizando (estrutura/atividade), o TGI é o parâmetro que apresenta menor erro. A seguir, temos uma tabela com os valores de TGI em $\mu\text{mol.L}^{-1}$ para os seis compostos.

Tabela 4: Valores de TGI em $\mu\text{mol.L}^{-1}$ para **(±)-130**, **(±)-135**, **113a**, **113b**, **105a** e **105b**.

Comp.	Linhagem celular (TGI, $\mu\text{mol.L}^{-1}$)*										
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
DOX	97,44	18,07	17,68	46,40	1,10	0,05	0,57	3,83	9,79	3,13	5,92
(±)-130	55,83	>250	31,48	>250	22,89	NR**	34,95	222,2	NR	NR	180,8
(±)-135	169,7	10,55	201,5	>250	135,5	49,10	240,1	75,95	68,32	63,28	153,3
113a	17,12	25,21	8,80	30,35	5,38	3,42	6,75	7,18	62,31	8,66	12,99
113b	162,5	>250	178,1	157,6	62,60	61,12	56,75	72,83	170,1	85,00	177,9
105a	65,51	75,25	46,92	11,19	52,04	71,37	NR	NR	NR	NR	50,68
105b	59,93	66,04	4,99	53,46	29,50	49,63	NR	NR	NR	NR	8,11

*Linhagens: **A** (MCF-7); **B** (NCI-ADR); **C** (786-0); **D** (HT-29); **E** (PC-03); **F** (NCI-460); **G** (UACC-62); **H** (OVCAR-03); **I** (U251); **J** (K562); **K** (VERO). **NR: não realizada. DOX = doxirrubicina.

Os valores de inibição total do crescimento obtidos mostram que todos os compostos apresentaram, para quase todas as linhagens celular, um bom perfil biológico na ordem de μM (Tabela 4). Todos os compostos, exceto **113b**, apresentam valores de inibição inferiores ao controle positivo para pelo menos uma linhagem de célula tumoral, destacando-se os compostos **(±)-135**, que se apresenta duas vezes mais ativo que o controle positivo para linhagem de células tumorais resistentes de ovário (NCI-ADR) e 15 vezes menos ativo contra células sadias (VERO), se mostrando bastante seletivo. O composto **(±)-130** se mostrou duas vezes mais ativo que o controle positivo e três vezes menos ativo contra células sadias. O composto **105a** também se mostrou seletivo, sendo quatro vezes

mais ativo que o controle positivo para a linhagem de células tumorais de cólon (HT-29) e cinco vezes menos ativo contra células sadias (VERO).

Comparando os valores de TGI para os compostos **113a** e **113b** verificamos uma grande discrepância entre eles, o composto **113a** é muito mais ativo contra todas as linhagens que o composto **113b**, mostrando que a configuração *R* do centro estereogênico da porção di-hidropirânica é preferencial para atividade antiproliferativa do composto.

Esses resultados se mostraram bastante satisfatórios, uma vez que sinaliza que nossa proposta inicial de simplificação molecular se mantém válida.

4.3.2. Atividade de Inibição de LMW-PTP

Os mesmos seis compostos, ($\pm$)-**130**, ($\pm$)-**135**, **113a**, **113b**, **105a** e **105b**, testados nas linhagens *in vitro* contra células tumorais para avaliar a atividade antiproliferativa formam testados contra a proteína tirosina fosfatase de baixo peso molecular (LMW-PTP).

A LMW-PTP (Figura 17A) é uma proteína tirosina fosfatase (PTP) pertencente à classe II das PTPs baseada em cisteína, que são amplamente expressadas em tecidos humanos não específicos e tem peso molecular na ordem de 18 kDa.¹⁰⁸ Essa enzima está envolvida na regulação de diversos processos biológicos, como crescimento celular, proliferação, invasão e migração de células sadias e cancerosas.¹⁰⁹ Sendo assim, não é surpreendente que a LMWPTP seja importante em processos cancerígenos e a rota biológica dela pode ser de interesse para o entendimento da biologia do câncer, bem como para estratégia para novas terapias antineoplásicas. Já é sabido que em células tumorais de próstata (PC-O3) a LMWPTP é superexpressa.¹¹⁰

O potencial oncogênico da LMWPTP está fortemente relacionado à ativação, via desfosforilação, da proteína tirosina quinase EphA2, que induz aumento do

¹⁰⁸ Ferreira, C. V.; Justo, G. Z.; Souza, A. C. S.; Queiroz, K. C.; Zambuzzi, W. F.; Aoyama, H.; Peppelenbosch, M. P. *Biochimie* **2006**, 88, 1859.

¹⁰⁹ Meloni, G.; Bottini, N.; Borgiani, P.; Lucarelli, P.; Meloni, T.; Bottini, E. *Med. Sci. Monit.* **2003**, 9, 105.

¹¹⁰ Ferreira, C. V., dado não publicado.

crescimento tumoral.¹¹¹ EphA2 desfosforilada também é responsável pela perda da adesão celular que é um ponto crítico na proliferação.¹¹² Não somente, a LMWPTP também impede a fosforilação de RhoGAP que em última instância conduz à desestabilização da adesão célula-célula, além de inibir a ação JAK2, conduzindo a caminhos de sobrevivência celular (Figura 17B).¹¹²

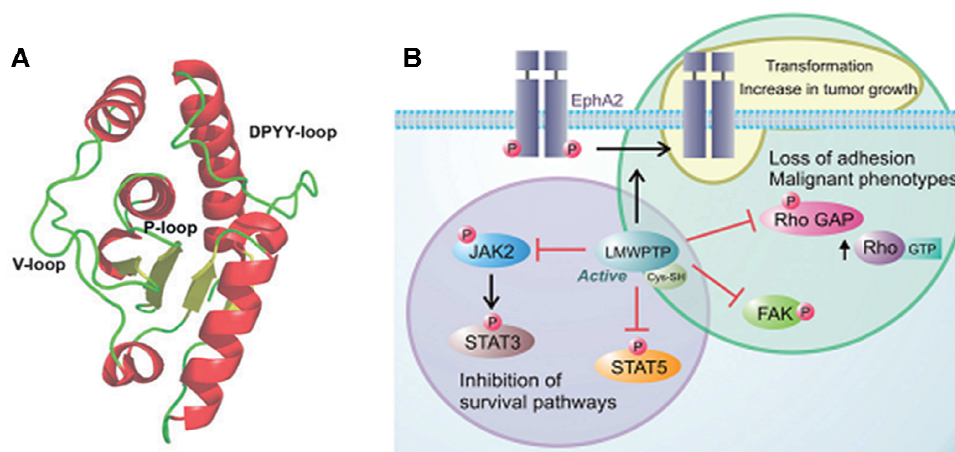


Figura 17: A) Estrutura 3D da LMWPTP; B) Efeito da LMWPTP na sobrevivência, crescimento e adesão celular.¹¹²

Sabendo-se da vasta atuação da LMWPTP nos processos neoplásicos e que o sítio ativo das enzimas é composto por resíduo de cisteína, que podem atuar em sistemas di-hidropirânicos através de reação de Michael,^{60,61} decidimos testar os mesmos seis compostos utilizados nos testes de atividade antiproliferativa, dessa vez para avaliar a inibição da enzima LMWPTP em colaboração com a Profa. Dra. Carmen Veríssima Ferreira do IB-UNICAMP e a aluna de doutorado Karin Juliane Pelizzaro Rocha.

A atividade da proteína tirosina fosfatase de baixo peso molecular (LMWPTP) purificada de rim bovino foi determinada utilizando-se o p-nitrofenilfosfato (p-NPP) como substrato. Esta fosfatase apresenta 100% de homologia com a correspondente humana. Utilizou-se meio da reação contendo

¹¹¹ Chiarugi, P.; Taddei, M. L.; Schiavone, N.; Papucci, L.; Giannoni, E.; Fiaschi, T.; Capaccioli, S.; Raugei, G.; Ramponi, G. *Oncogene* **2004**, 23, 3905.

¹¹² Souza, A. C. S.; Azoubel, S.; Queiroz, K. C. S.; Peppelenbosch, M. P.; Ferreira, C. V. *Cell. Mol. Life Sci.* **2009**, 66, 1140.

tampão acetato 100 mM, pH 5 e *p*-NPP 5 mM. Em seguida a reação foi interrompida com a adição de 1 mL de NaOH 1M e a quantidade de *p*-NPP liberada foi medida em 405 nm. Nesse ensaio nenhum dos compostos se mostrou ativo para inibição da enzima (Figura 18).

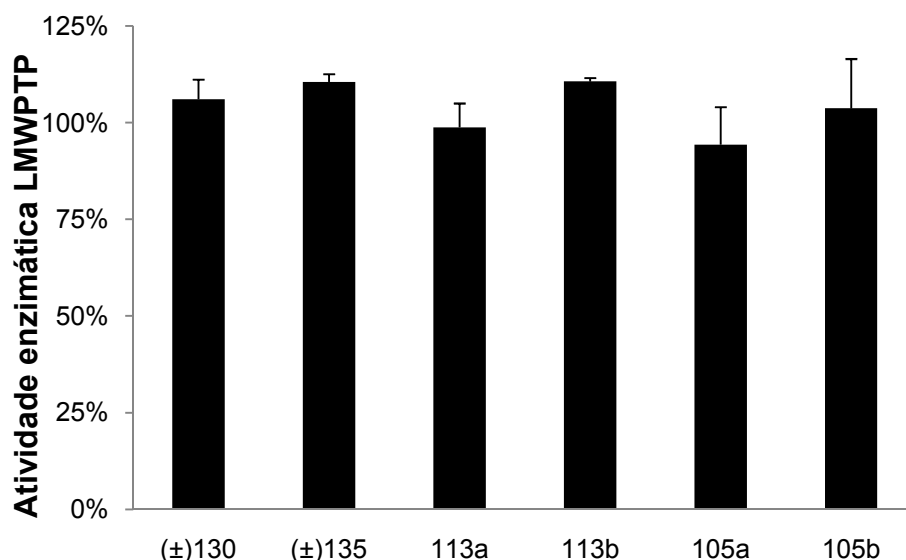


Figura 18: Atividade enzimática de LMWPTP, tratamento sem pré- incubação da enzima com os compostos.

Os compostos, então, foram submetidos à pré-incubação com a enzima por 10 minutos e, em seguida, foram postos em meio de reação contendo tampão acetato 100 mM, pH 5 e *p*-NPP 5 mM. A reação foi interrompida com a adição de 1 mL de NaOH 1M e a quantidade de *p*-NPP liberada foi medida em 405 nm. Nesse caso, todos os compostos apresentaram atividade de inibição da enzima, sendo que os compostos **113a** e **105b** tiveram inibição de 75%, os compostos **(±)-130** e **113b** apresentaram inibição na ordem de 40% e os melhores resultados foram obtidos com os compostos **(±)-135** e **105a** com atividade inibitória na ordem de 25% (Figura 19).

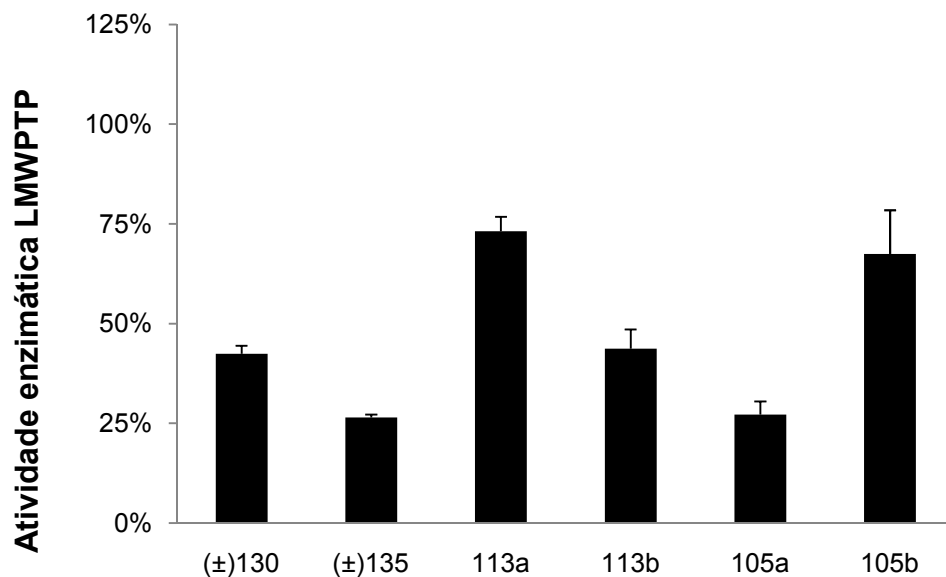


Figura 19: Atividade enzimática de LMWPTP, tratamento com pré- incubação da enzima com os compostos por 10 minutos.

Desse ensaio, os compostos foram submetidos ao mesmo teste de inibição enzimática, sendo administrado nas concentrações que variam de 0 a 2 mM. Pela análise dos dados obtidos podemos verificar a dependência dose resposta dos compostos na atividade enzimática (Figura 20).

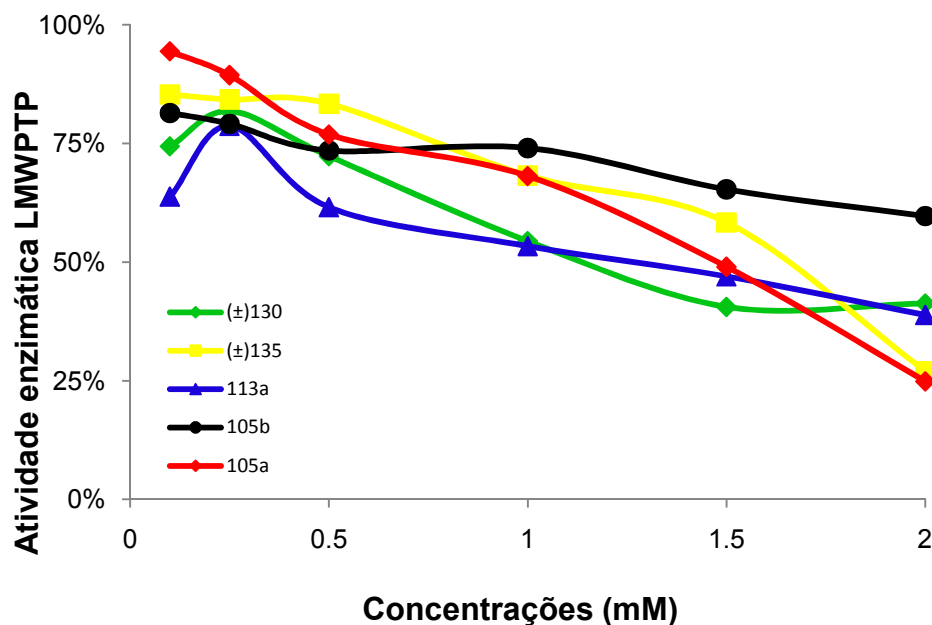


Figura 20: Inibição da atividade enzimática da LMWPTP em diferentes concentrações dos compostos (±)-130, (±)-135, 113a, 113b, 105a e 105b.

Uma vez que os compostos se mostraram ativos perante a atividade enzimática da LMWPTP isolada, fomos verificar a viabilidade celular de linhagens tumorais em que é sabido que a LMWPTP é superexpressada após tratamento de 24 h com os compostos **(±)-130**, **(±)-135**, **113a**, **113b**, **105a** e **105b**. Para esse teste foram usadas três linhagens de células tumorais: a de próstata PC-03, a de leucemia K562 e a de leucemia resistente a múltiplas drogas Lucena. A linhagem PC-03 foi selecionada por saber anteriormente que nesse tipo de célula a LMWPTP é superexpressada.¹¹⁰ Já as outras duas linhagem do tecido hematopoiético foram selecionadas por quatro motivos: primeiro por saber que a fostriecina se mostrou ativa contra células de leucemia *in vivo*;¹¹ segundo, que na triagem inicial da atividade antiproliferativa alguns compostos se mostraram bastante ativos contra linhagem de células tumorais resistentes (Figura 14 e Figura 15); terceiro, porque a LMWPTP também é superexpressada na Lucena e por fim, para se ter um perfil de comparação entre o desempenho dos compostos perante células tumorais resistentes e não resistentes a múltiplos fármacos.

Os compostos **(±)-130**, **(±)-135**, **113a**, **113b**, **105a** e **105b** foram submetidos ao teste de viabilidade celular contra as linhagens PC-03, K562 e Lucena utilizando o método MTT. Para o teste realizado com a linhagem PC-03 foi utilizado cisplatina como controle positivo (Figura 21).

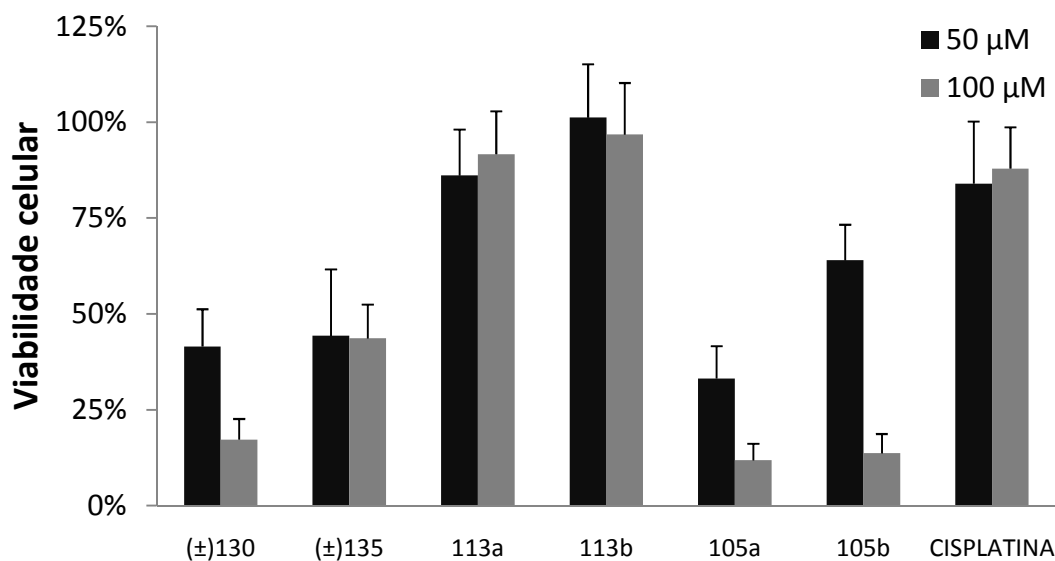


Figura 21: Viabilidade celular da célula PC-03 perante tratamento com os compostos **(±)-130**, **(±)-135**, **113a**, **113b**, **105a** e **105b** nas concentrações de 50 e 100 µM.

A análise dos dados apresentados no gráfico da Figura 21 mostrou que dos seis compostos testados, quatro se mostraram mais ativos que o controle positivo. Vale ressaltar que a cisplatina é um agente altamente citotóxico que induz morte celular por caminhos apoptóticos e necróticos.¹¹³ Os compostos ($\pm$)-**130**, ($\pm$)-**135**, **105a**, que apresentaram inibição da enzima LMWPTP isolada, também apresentaram alta atividade inibitória para o crescimento celular. Os melhores resultados em célula são obtidos para os compostos ($\pm$)-**130**, **105a**. Acreditamos que a presença de uma porção apolar na estrutura química desses compostos facilite a permeabilidade deles na membrana celular.

Esses dados obtidos em linhagem celular tumoral de PC-03, juntamente com os resultados de inibição da enzima isolada, sugere que a morte celular causada pelos compostos ($\pm$)-**130**, ($\pm$)-**135**, **105a** seja devida a alguma via de sinalização que envolva a presença da LMWPTP em sua forma reduzida ou oxidada.

Os testes de viabilidade celular para as linhagens K562 e Lucena foram realizados com os mesmos seis compostos testados para linhagem PC-03 na concentração de 100 mM (Figura 22). Nesses testes, foi utilizado como controle positivo a vincristina, que é um potente quimioterápico de ampla atuação em tratamentos anticâncer, mas que sofre com o problema de resistência adquirido por algumas linhagens tumorais.

¹¹³ Fuertes, M. A.; Castilla, J.; C.; Pérez, J. M. *Curr. Med. Chem.* **2003**, *10*, 257.

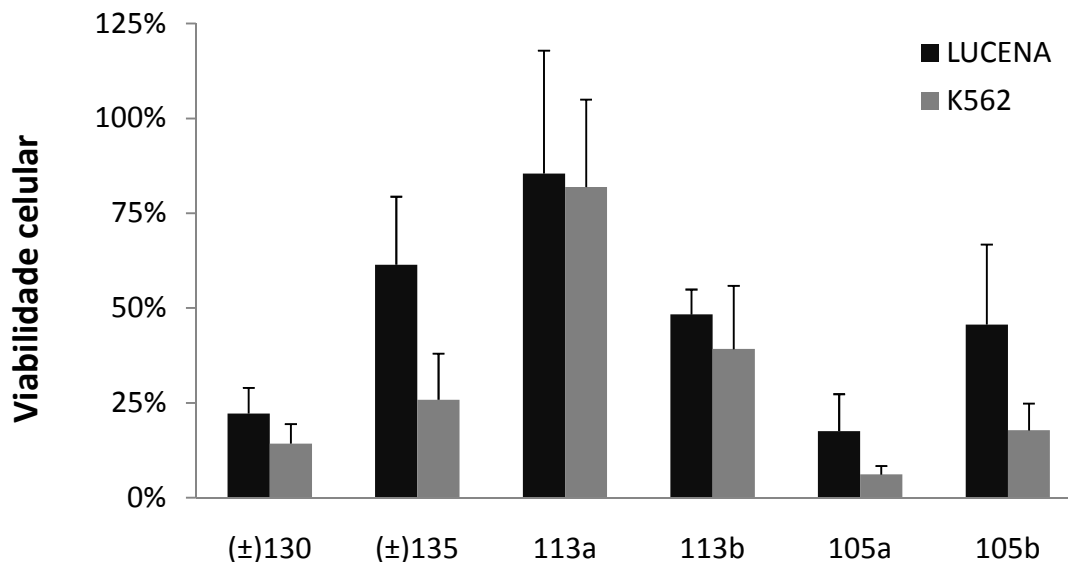


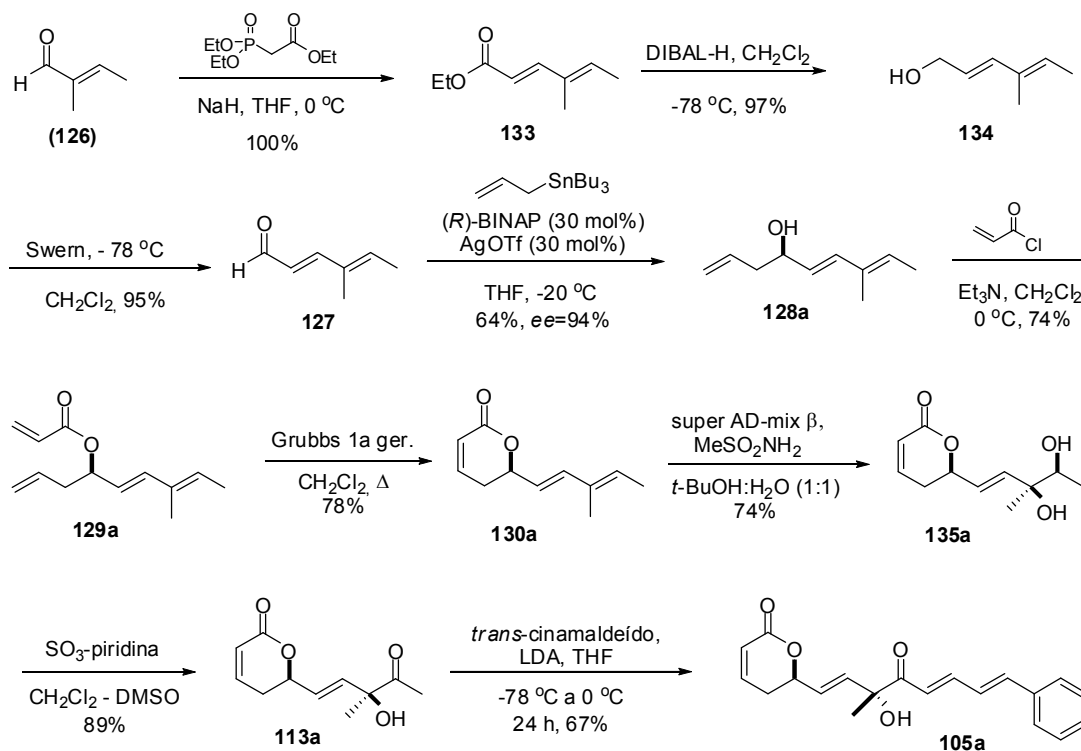
Figura 22: Viabilidade celular das células K562 e Lucena perante tratamento com os compostos **(±)-130**, **(±)-135**, **113a**, **113b**, **105a** e **105b** na concentração de 100 µM.

A análise dos dados obtidos, que possibilitou a construção do gráfico da Figura 22, mostra uma grande atividade dos compostos **(±)-130**, **(±)-135**, **105a** e **105b** contra as duas linhagens, principalmente na concentração de 100 µM, merecendo destaque para o composto **105a** que apresentou viabilidade celular praticamente nula. Um fato interessante ocorreu com o composto **113b** que não se apresentou ativo contra a linhagem PC-03, porém teve inibição em torno de 50% da enzima isolada e também se mostrou ativo para as linhagens de leucemia K562 e leucemia resistente Lucena.

De todos os testes realizados com os compostos sintetizados, três deles se destacaram como promissores: **(±)-130**, **(±)-135**, **105a**. Esses compostos mostraram-se ativos para uma ou mais linhagens de células tumorais no teste de atividade antiproliferativa. Observou-se taxa de inibição da enzima LMWPTP isolada abaixo de 50% e na triagem em células que superexpressam a LMWPTP, esses compostos apresentaram atividade apreciável, principalmente para a linhagem de células tumorais resistentes.

5. Conclusões e Considerações finais

De uma forma geral, os objetos propostos para o projeto, no que diz respeito à síntese dos análogos **105a** e **105b**, bem como a avaliação das atividades biológicas desses análogos e dos intermediários da síntese, foram bem sucedidos.



Esquema 44: Sumário da estratégia sintética implementada para síntese do análogo **105a**.

Segundo a estratégia sintética proposta para a estrutura do análogo de fostriecina **105a** (Esquema 44), as seguintes etapas do projeto de pesquisa foram implementadas com sucesso: alilação catalítica e assimétrica de Yamamoto para a construção do centro estereogênico em C5; a reação de di-hidroxilação assimétrica de Sharpless para instalação do centro quaternário em C8; a condensação aldólica para acoplar a parte hidrofóbica da molécula.

Para construção do álcool homoalílico **128a** foi utilizada a reação de alilação catalítica e assimétrica de Yamamoto, tendo alcançado o produto em 64% de rendimento e 94% de excesso enantiomérico.

A di-hidroilação de Sharpless teve suas condições experimentais otimizadas para a síntese do composto **135a** em 74% de rendimento.

Foi desenvolvida uma rota sintética paralela que possibilitou a determinação dos centros estereogênicos dos compostos sintetizados através de comparação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C , bem como os valores de rotação ótica de compostos já descritos na literatura.

A síntese do análogo **105a** foi alcançada em 15% de rendimento global em nove etapas. O uso de HPLC preparativo possibilitou a obtenção do análogo **105b** e do análogo **105a** em quantidades apreciáveis para realização de estudos biológicos.

Nos ensaios de atividade antiproliferativa [linhagens de células tumorais utilizadas: glioma de sistema nervoso central (U251), melanoma (UACC-62), mama (MCF7), ovário resistente (NCI/ADR), rins (786-0), pulmão (NCI-460), próstata (PC-03), ovário (OVCAR-03), cólon (HT-29), leucemia (K562) e célula epitelial normal de rim de macaco verde (VERO)] todos os compostos testados, exceto **113b** apresentaram atividade contra pelo menos uma linhagem. O composto ($\pm$)-**135** se mostrou duas vezes mais ativo que o controle positivo para linhagem de células tumorais resistentes de ovário (NCI-ADR) e 15 vezes menos ativo contra células sadias (VERO), se mostrando bastante seletivo. O composto ($\pm$)-**130** se mostrou duas vezes mais ativo que o controle positivo e três vezes menos ativo contra células sadias. O composto **105a** também se mostrou seletivo, sendo quatro vezes mais ativo que o controle positivo para a linhagem de células tumorais de cólon (HT-29) e cinco vezes menos ativo contra células sadias (VERO).

Nos ensaios de inibição da fosfatase LMWPTP, todos os compostos inibiram a enzima isolada, merecendo destaque para os compostos ($\pm$)-**135** e **105a**, que apresentaram valores próximos de 75% de inibição da atividade enzimática.

Os ensaios em células que superexpressam a LMWPTP foram bastante satisfatórios para as linhagens de células tumorais de próstata (PC-03) e todos os compostos se mostram mais ativos que o controle positivo, cisplatina. Nas

linhagens de células tumorais do tecido hematopoiético, K562 e Lucena, também foi verificada atividade para todos os compostos, merecendo destaque para os compostos **(±)-130**, **(±)-135** e **105a** que apresentaram morte celular superior a 80% das células viáveis, principalmente para linhagem de células resistentes a múltiplas drogas, Lucena.

Por fim, os compostos **(±)-130**, **(±)-135**, **105a**, de acordo com os resultados dos testes obtidos, mostraram-se bastante promissores como agentes anticâncer, uma vez que apresentaram valores apreciáveis na atividade antiproliferativa *in vitro* para linhagens tumorais e pouca citotoxicidade perante células saudáveis. Esses mesmos compostos mostraram atividade de inibição da LMWPTP isolada e também conduziram morte celular a linhagens tumorais que superexpressam essa enzima, sugerindo uma forte relação entre a morte celular e a inibição da enzima LMWPTP.

Estudos posteriores com esses compostos, ou estruturas análogas desses, podem servir para o melhor entendimento das vias de sinalização da LMWPTP, que ainda não está totalmente elucidada, bem como para o desenvolvimento de compostos bioativos para tratamentos antineoplásicos.

6. Parte Experimental

6.1. Reagentes e solventes

As reações envolvendo condição anidra foram realizadas sob atmosfera de argônio, em balão previamente flambado. Trietilamina, diisopropiletilamina, diisopropilamina, dimetilsulfóxido, piridina, acetonitrila, tolueno, benzeno, tetracloreto de titânio (IV) e diclorometano foram tratados com hidreto de cálcio e destilados antes do uso. Tetraidrofurano foi tratado com sódio metálico e benzofenona e destilado imediatamente antes do uso. Metanol foi seco com Mg/I_2 e destilado de $(\text{MeO})_2\text{Mg}$. Acroleína, iodeto de metila, cloreto de propionila e cloreto de oxalila foram destilados imediatamente antes do uso. Peneira molecular foi ativada a 500°C por 6 horas. Os demais reagentes foram utilizados sem prévio tratamento¹.

6.2. Métodos cromatográficos

As cromatografias de adsorção em coluna foram realizadas utilizando-se sílica-gel Aldrich [70 - 230 mesh (*flash*) e 230 - 400 mesh]. Os eluentes empregados estão descritos nas respectivas preparações.

As análises por cromatografia em camada delgada foram realizadas utilizando-se placas obtidas a partir de cromatofolhas de alumínio impregnadas com sílica gel 60 F_{254} (Merck) e reveladas em luz $\text{UV}_{254\text{nm}}$ e/ou por imersão em solução de permanganato de potássio, ácido fosfomolibidínico ou *p*-anisaldeído seguida de aquecimento.

As análises por cromatografia gasosa foram realizadas em aparelho Agilent 6890; utilizando-se coluna semi-capilar HP-5 (5% PhMe silicone, 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), nitrogênio como gás de arraste e detector de ionização em chama.

As cromatografias líquidas de alta eficiência foram realizadas em Sistema Waters Alliance, com detector com arranjo diodo Water 2998 e coluna Sunfire de sílica (4,6 mm x 150 mm x 4,6 mm) e também em Sistema Water Preparativo com

¹ Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F. *Purification of Laboratory Chemicals* **1988**, Pergamon Press, 3rd Ed.

bomba binária 1525, detector com arranjo de diodo e coluna Sunfire™ preparativa de sílica OBD™ (19 mm x 100 mm x 5 µm).

6.3. Métodos espectroscópicos

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H) e de carbono (RMN de ^{13}C) foram obtidos nos aparelhos Bruker 250, Varian Gemini 300 e Varian Inova 500. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados pelo sinal de clorofórmio deuterado em 7,26 ppm para RMN de ^1H e 77,0 para o RMN de ^{13}C ou pelo sinal do benzeno deuterado em 7,16 ppm para RMN de ^1H . A multiplicidade dos sinais dos hidrogênios nos espectros de RMN de ^1H foi indicada segundo a convenção: s (singleto), sl (sinal largo), d (duplete), t (triplete), tl (triplete largo), td (triplo duplete), q (quarteto), dd (duplo duplete), ddd (duplo duplo duplete), dt (duplo triplete), ddt (duplo duplo triplete), qt (quinteto), st (sexteto), dst (duplo sexteto), sp (septeto), dsp (duplo septeto), oct (octeto) e m (multiplete).

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) foram obtidos em um aparelho Nicolet Impact 410 ou num Perkin-Elmer 1600 FTIR entre janelas de NaCl (filme líquido) com as frequências de absorção sendo expressas em cm^{-1} .

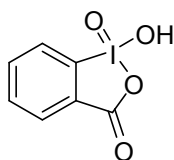
Os valores de rotação ótica específica foram medidos a 25 °C em um polarímetro Perkin-Elmer modelo 341, lâmpada de sódio (Instituto de Química – UNICAMP).

Os espectros de massa foram determinados num CG/EM TOF GCT-Waters, com ionização por EI: 70 eV.

A nomenclatura dos compostos foi feita utilizando o programa ChemDraw Ultra 10.0.

A seguir, serão detalhados somente os procedimentos experimentais que efetivamente conduziram a intermediários utilizados em etapas posteriores ou que puderam ser indubitavelmente caracterizados segundo espectroscopias apropriadas.

6.4. Compostos preparados



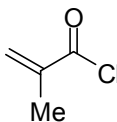
IBX

A uma solução de 18,1 g (29,0 mmol) de oxana em 65,0 mL de água deionizada foi adicionado 5,00 g (20,0 mmol) de ácido o-iodobenzóico. A mistura foi mantida sob agitação vigorosa a 70 °C por 3 h, em seguida foi resfriada a 5 °C e mantida a essa temperatura por 1,5 h. Após esse período a suspensão foi filtrada em funil de vidro sinterizado e o sólido lavado sequencialmente com água destilada (3 x 10,0 mL) e acetona (2 x 10,0 mL) e depois seco a vácuo por 5 h.

Rendimento: 4,87 g (87%)

Aspecto físico: sólido branco

P.F.: 236-237 °C



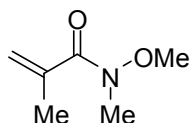
Cloreto de metacrilóila (116)

Em um balão de duas bocas de 10,0 mL, equipado com um condensador de refluxo, adicionou-se 2,0 mL (23,6 mmol) de ácido metacrílico (**115**). Aqueceu-se o balão até 80 °C e adicionou-se gota-a-gota, por meio do funil de adição, 2,1 mL (28,8 mmol) de cloreto de tionila. A reação permaneceu nesta temperatura e sob agitação por 1 h. O produto foi purificado através de destilação simples.

Rendimento: 2,12 g (86%)

Aspecto físico: líquido amarelo pálido

IV (filme, cm⁻¹): 2983, 2937, 1784, 1724, 1635, 1454, 1047.



***N*-metoxi-*N*-metilmetacrilamida (111)**

A uma solução contendo 2,52 g de hidrocloreto de *N*-*O*-dimetil-hidroxilamina em 100,0 mL de CH₂Cl₂ adicionou-se via cânula o cloreto ácido **116** dissolvido em 20,0 mL de CH₂Cl₂ a temperatura ambiente. A solução foi resfriada a 0 °C, em seguida adicionou-se 4,2 mL de piridina. A temperatura foi elevada a ambiente e após 30 min de reação o solvente, juntamente com excesso de piridina, foram removidos por destilação. O material foi então parcionado com salmoura e CH₂Cl₂ e a fase orgânica obtida foi seca com Na₂SO₄ anidro e concentrada em rotaevaporador. O produto foi purificado por cromatografia em coluna com sílica gel, utilizando hexano:acetato de etila 1:1 como mistura eluente.

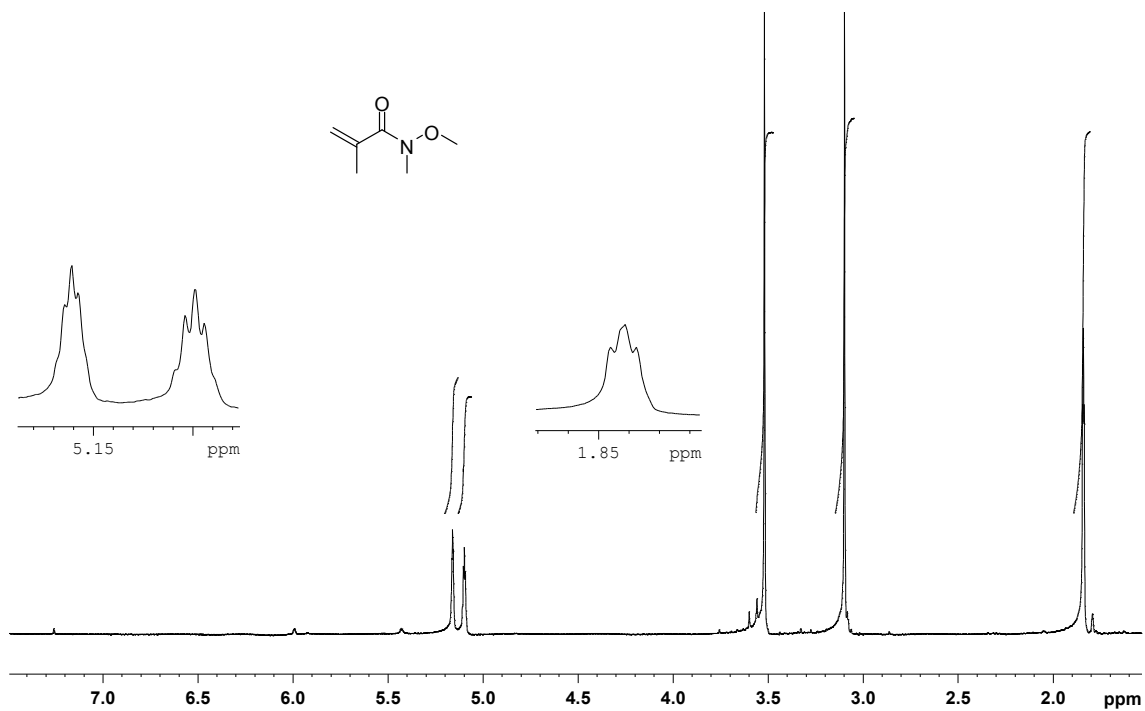
Rendimento: 2,44 g (93%).

Aspecto físico: óleo amarelo

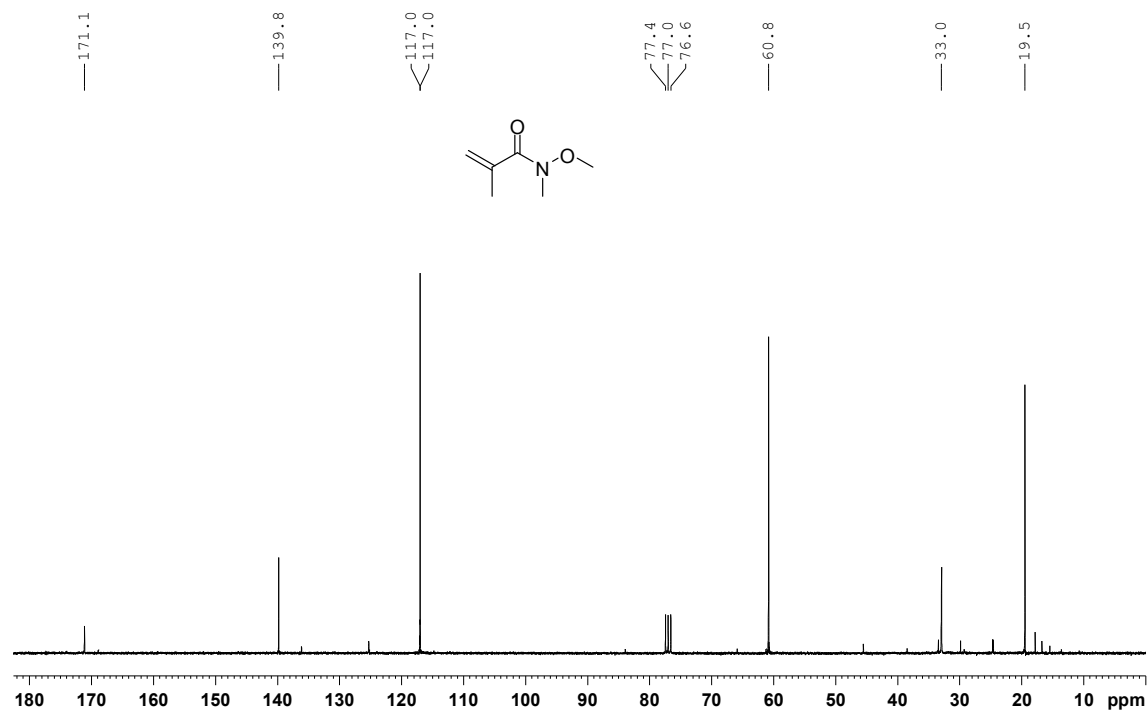
RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 1,84 (t, *J* = 1,3 Hz, 3H); 3,10 (s, 3H); 3,52 (s, 3H); 5,10 (t, *J* = 1,3 Hz, 1H); 5,16 (t, *J* = 1,3 Hz, 1H).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm): 19,5; 33,0; 60,8; 117,0; 139,8; 171,1.

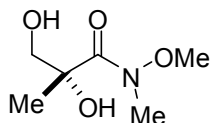
IV (filme, cm⁻¹): 2974, 2935, 1657, 1456, 1375, 1176, 997.



Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃): composto 111



Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): composto 111



(R)-2,3-di-hidroxi-N-metoxi-N,2-dimetilpropanamida (117)

Para 1,55g (1,00g para cada 0,5 mmol de olefina) de ADmix- α foram dissolvidos em 8,0 mL de uma mistura de *t*-butanol:água (1:1) e então resfriado a 0 °C. Em seguida, 184,0 mg (1,936 mmol) de metanossulfonamida foram adicionados na reação que foi agitada por 5 min. Após esse tempo, acrescentou-se 100,0 mg (0,774 mmol) da amida de Weinreb **111** dissolvida 4,0 mL da mistura de *t*-butanol:água (1:1). A reação permaneceu sob agitação a 0 °C por 12 h, quando percebeu-se o desaparecimento do material de partida por meio de cromatografia em camada delgada (CCD). Com isso, acrescentou-se Na₂SO₄ à mistura reacional que permaneceu sob agitação por 1 h a temperatura ambiente. Transcorrido esse período a mistura foi filtrada e concentrada em rotaevaporador. O produto foi purificado por cromatografia em coluna com sílica gel, utilizando acetato de etila como eluente.

Rendimento: 93,4 mg (74%)

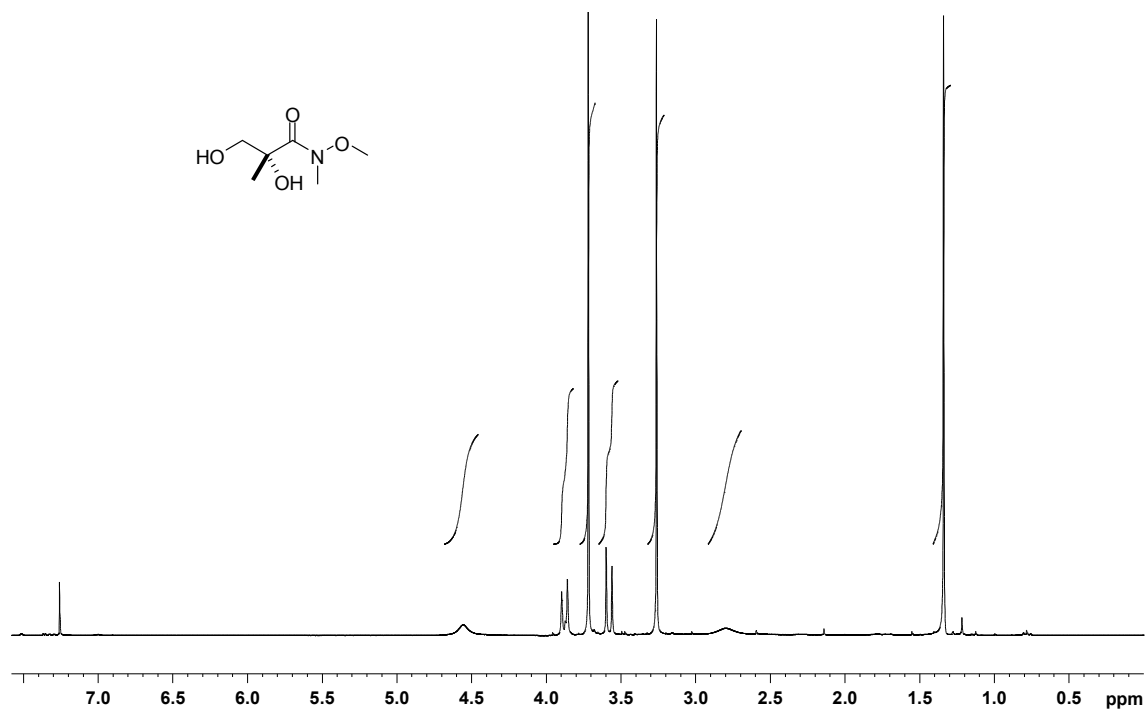
Aspecto físico: óleo amarelo viscoso

RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) δ (ppm): 1,34 (s, 3H); 2,56 (sl, 1H); 3,26 (s, 3H); 3,58 (d, J = 11,4 Hz, 1H); 3,72 (s, 3H); 3,88 (d, J = 11,4 Hz, 1H); 4,51 (sl, 1H).

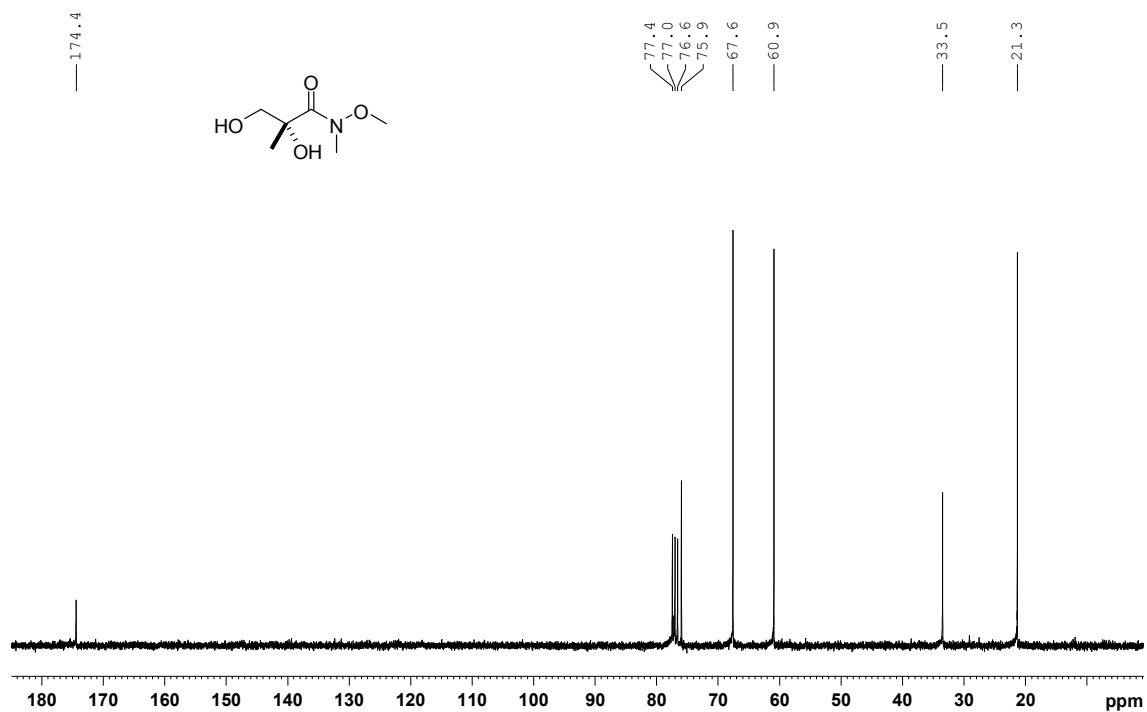
RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) δ (ppm): 21,3; 33,5; 60,9; 67,6; 75,9; 174,4.

IV (filme, cm⁻¹): 3432, 2991, 2925, 1630, 1462, 1356, 1172, 1050.

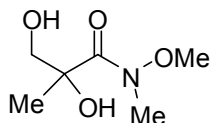
$[\alpha]_D^{25} = + 4,5$ (c 1,8, MeOH); {lit.Error! Bookmark not defined. $[\alpha]_D^{25} = + 4,7$ (c 1,80; MeOH)}.



Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃): composto 117



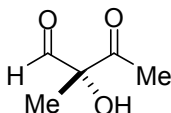
Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): composto 117



2,3-di-hidroxi-*N*-metoxi-*N*,2-dimetilpropanamida (±)-(117)

A uma solução de 100 mg (0,774 mmol) da olefina **111** em 5,0 mL de uma mistura de acetona:água (8:1) foi adicionado 181,6 mg (1,55 mmol) de NMO e 0,32 mL (0,077 mmol) de solução aquosa 0,25 M de OsO₄. A mistura reacional foi agitada e acompanhada por CCD. Ao término da reação, adicionou-se Na₂S₂O₅ à mistura reacional, que permaneceu por 1h sob agitação vigorosa. As fases foram separadas e a aquosa extraída com 2 X 5 mL de acetato de etila. As fases orgânicas combinadas foram secas com MgSO₄, filtradas e concentradas em rotaevaporador. O produto foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel, utilizando acetato de etila como eluente.

Rendimento: 77,2 mg (60%)



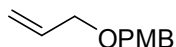
(*R*)-2-hidroxi-*N*-metoxi-*N*,2-dimetil-3-oxopropanamida (112)

A uma solução de 100,0 mg (0,613 mmol) do diol **118** em 4,30 mL de AcOEt, adicionou-se 686,6 mg (2,45 mmol) de IBX. A suspensão permaneceu sob refluxo até consumo total do material de partida, o que foi acompanhado por CCD e aconteceu depois de 1 h de reação. Após esse período a mistura foi filtrada em funil com placa sinterizada, o solvente evaporado e o produto isolado foi utilizado na próxima etapa sem prévia purificação.

Rendimento: 70,0 mg (70%)

Aspecto físico: óleo viscoso amarelo

IV (filme, cm⁻¹): 3419, 2917, 2847, 1740, 1650, 1454, 1364, 997.



1-(aliloximetil)-4-metoxibenzeno (120)

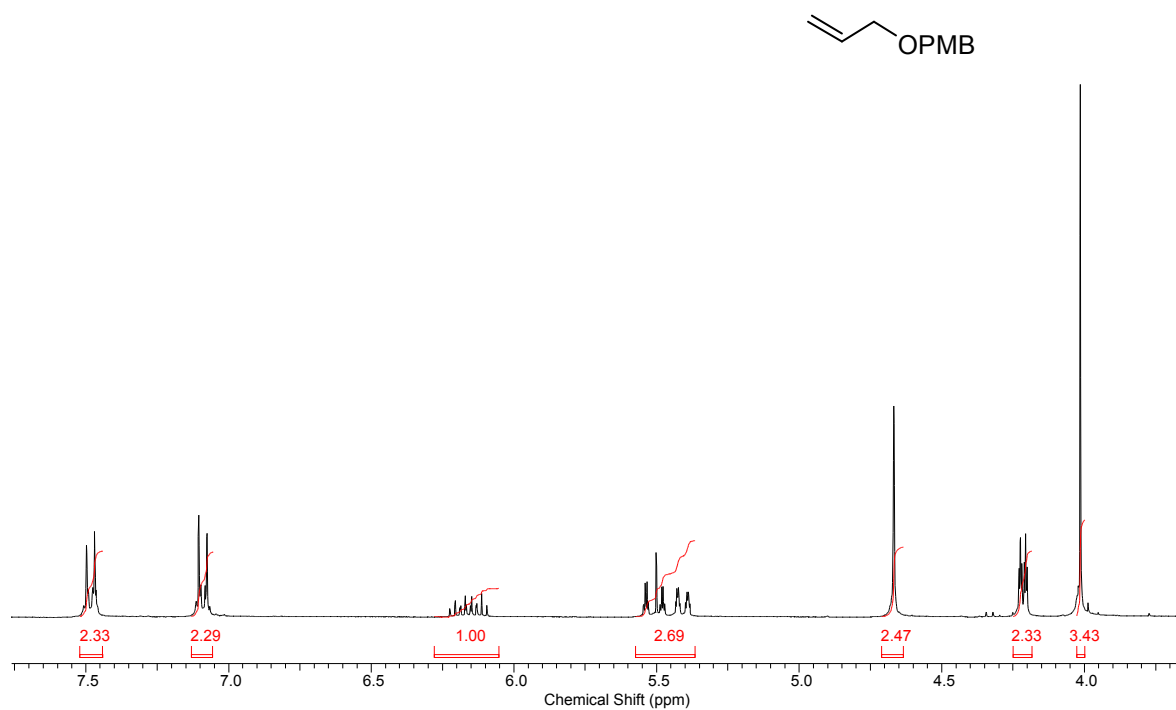
Para 2,7 mL (40,0 mmol) de álcool alílico (**119**) em 50,0 mL de CH_2Cl_2 foi adicionado 9,3 g (33,2 mmol) de tricloroacetimidato de *p*-metoxibenzila e 0,3 g (1,14 mmol) de ácido canforsulfônico à temperatura ambiente. A mistura foi mantida sob agitação magnética por 18 horas, diluída com 200,0 mL de éter etílico e extraída com soluções aquosas de NaHCO_3 , (2 X 50,0 mL) e salmoura (1 X 50,0 mL). A fase orgânica foi secada com MgSO_4 , filtrada e evaporada. Purificação por coluna cromatográfica (AcOEt/hexano 10%) forneceu o composto puro.

Rendimento: 6,7 g (94%)

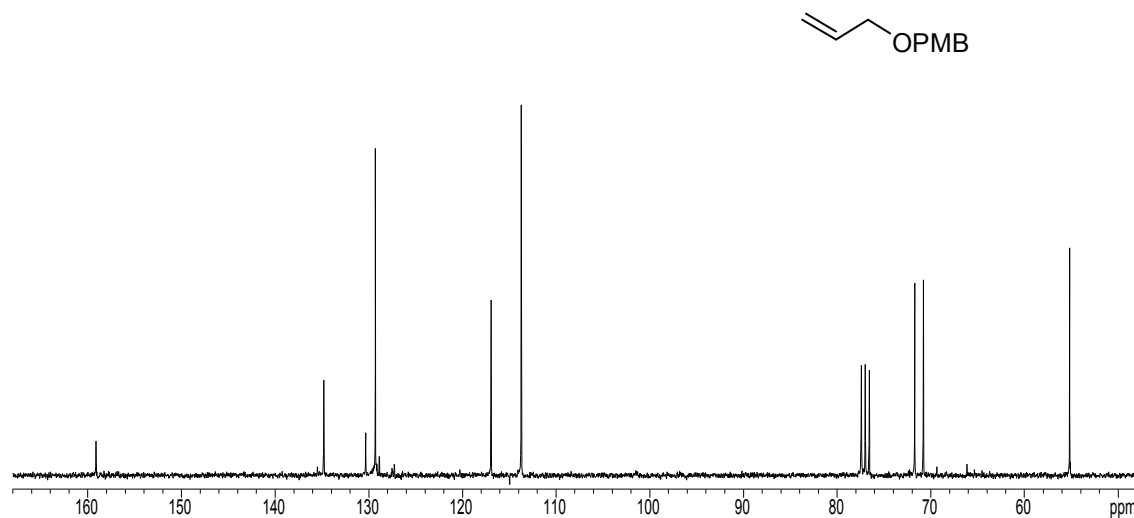
Aspecto físico: óleo amarelo

RMN de ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) δ (ppm): 3,80 (s, 3H); 4,00 (dt, $J = 5,5$ Hz, $J = 1,5$ Hz, 2H); 4,45 (s, 2H); 5,19 (ddt, $J = 10,2$; 1,8 e 1,1 Hz, 1H); 5,29 (ddt, $J = 17,2$; 1,8 e 1,5 Hz, 1H); 5,93 (ddt, $J = 17,2$; 10,2 e 5,5 Hz, 1H); 6,87 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H); 7,27 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H).

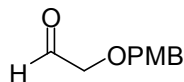
RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 62,5 MHz): δ (ppm): 55,3; 70,9; 71,8; 113,7; 116,9; 129,2; 130,2; 134,7; 159,0.



Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃): composto 120



Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): composto 120



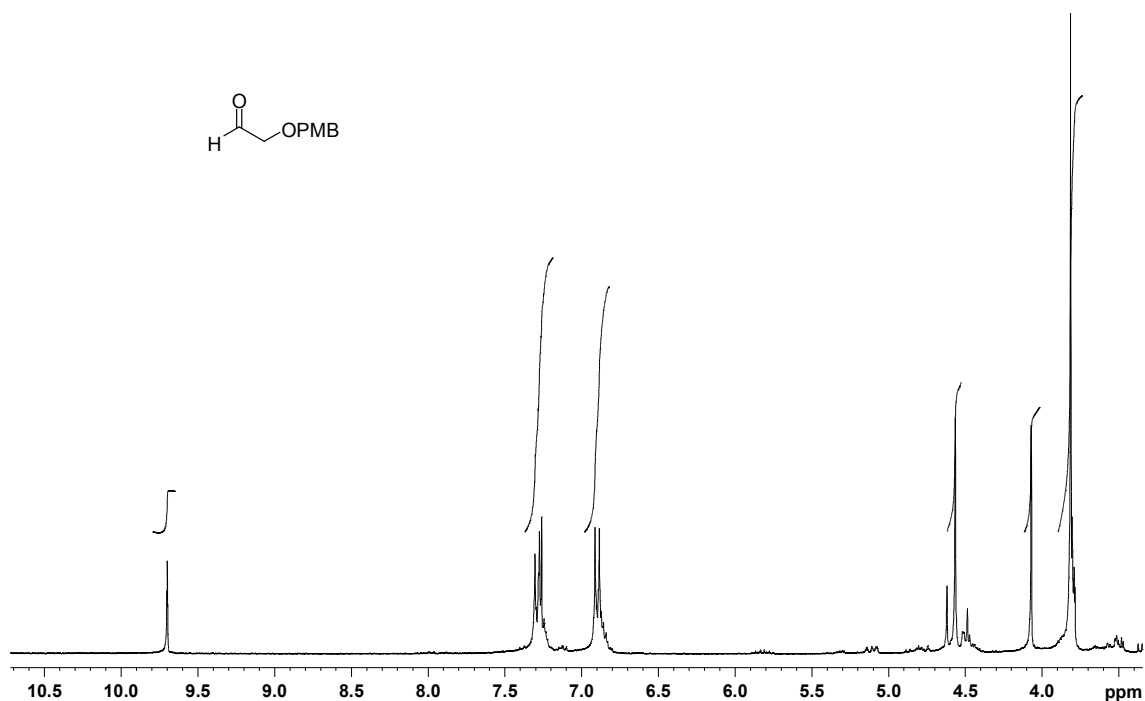
2-(4-metoxibenziloxi)-acetaldeído (107)

Para uma solução de 2,03 g (11,4 mmol) do composto **120** e 5,35 g (25,1 mmol) de NaIO₄ em éter-H₂O (112,8 mL; 1:1) foi adicionado 3,8 mL de OsO₄ (solução 0,02 M em *t*-BuOH). Após agitação por 12 horas a 25 °C foram adicionados 60,0 mL de H₂O. A fase etérea foi separada e a fase aquosa foi extraída com 5 porções de 60,0 mL de éter etílico. A fase orgânica combinada foi secada com MgSO₄, filtrada e evaporada sob vácuo. O produto foi utilizado na próxima etapa sem prévia purificação.

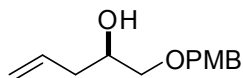
Rendimento: 1,42 g (74%)

Aspecto físico: óleo amarelo escuro; R_f = 0,41(hexano/AcOEt 30%).

RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz), δ: 3,81 (s, 3H); 4,07 (s, 2H); 4,56 (s, 2H); 6,89 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H); 7,28 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H); 9,70 (t, *J* = 0,8 Hz, 1H).



Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃): composto 107



(R)-1-(4-metoxibenziloxi)pent-4-en-2-ol (108)

A uma solução de 80,2 mg (0,28 mmol) de (R)-BINOL em 2,8 mL de CH₂Cl₂ sob agitação, adicionou-se peneira molecular 4 Å (pulverizada e ativada em forno a 120 °C por quatro dias). À suspensão resultante adicionou-se 0,28 mL (0,28 mmol) de uma solução 1 M de tetraisopropóxido de titânio em CH₂Cl₂ a temperatura ambiente. Nessa etapa a solução ficou com coloração laranja-avermelhada. Aqueceu-se a reação até temperatura de refluxo que permaneceu por 1 h, tornando-se agora vermelha-amarronzada. Em seguida, resfriou-se a mistura reacional até temperatura ambiente e uma solução de 510,0 mg (2,82 mmol) do aldeído **107** em 0,5 mL de CH₂Cl₂ por meio de uma cânula. Após 5 min de agitação a reação foi resfriada a -78 °C e 1,1 mL (3,38 mmol) de aliltributilestanana foi adicionado e em seguida, a mistura foi posta a -20 °C por 60 h sem agitação. Transcorrido este período a mistura reacional foi filtrada, o solvente evaporado e o bruto reacional foi submetido a CC com sílica *flash*, utilizando hexano:acetato de etila (8:2) como sistema eluente.

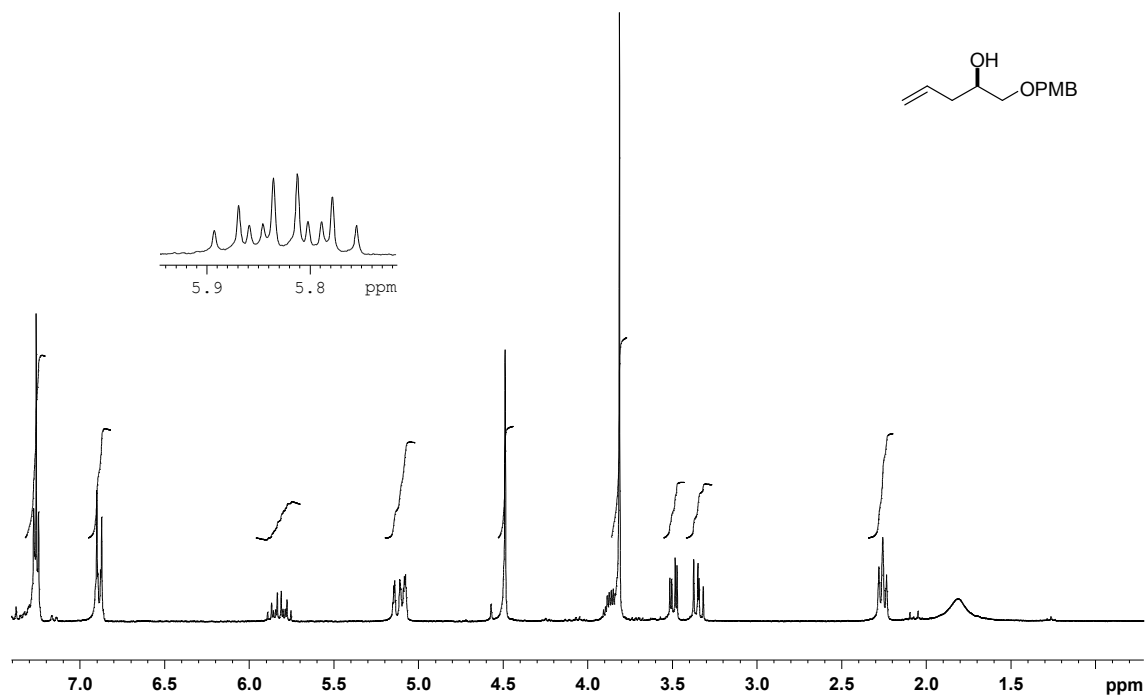
Rendimento: 545,3 mg (87%).

Aspecto físico: óleo amarelo

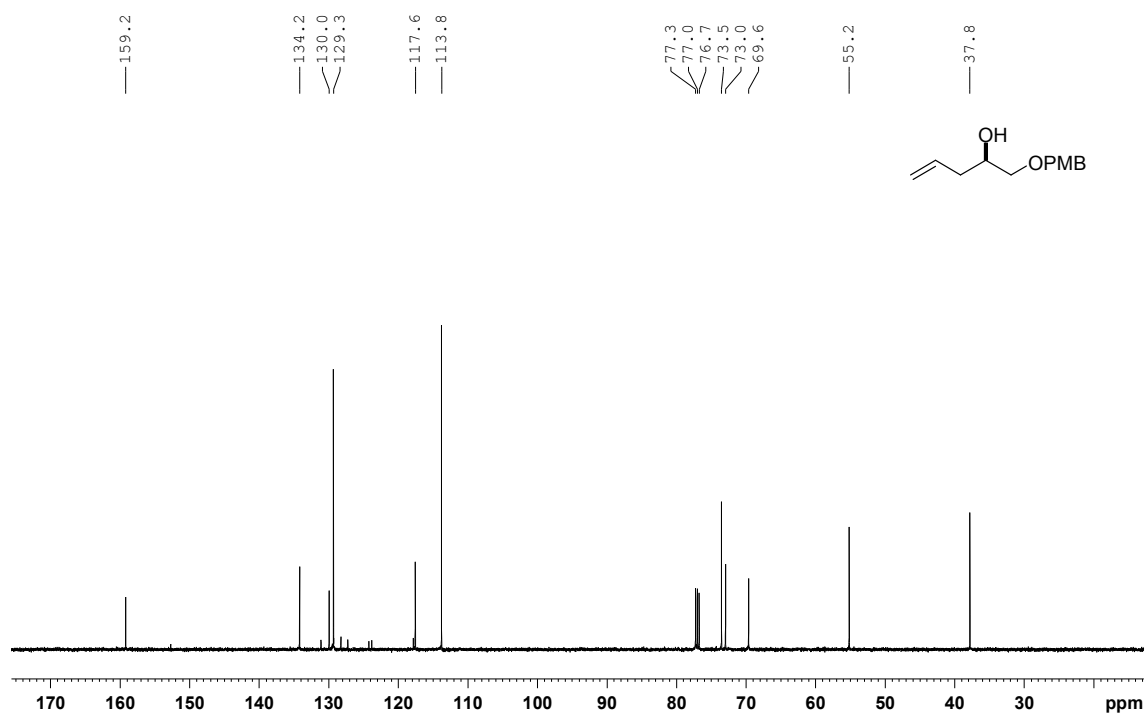
RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 1,82 (sl, 1H); 2,26 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H); 3,35 (dd, *J* = 9,5 e 7,3 Hz, 1H); 3,49 (dd, *J* = 9,5 e 3,3 Hz, 1H); 3,82 (s, 3H); 3,85 (m, 1H); 4,49 (s, 2H); 5,11 (m, 2H); 5,82 (ddt, *J* = 17,2; 10,1 e 6,6 Hz, 1H); 6,89 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H); 7,27 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 37,8; 55,2; 69,6; 73,0; 73,5; 113,8; 117,6; 129,3; 130,0; 134,2; 159,2.

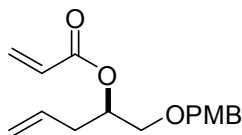
$[\alpha]_D^{25} = + 2,0$ (c 4,0; CHCl₃); {lit.^{10a}, $[\alpha]_D^{25} = + 1,7$ (c 4,0; CHCl₃)}.



Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃): composto 108



Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): composto 108



Acrilato de (*R*)-1-(4-metoxibenziloxi)pent-4-en-2-ila (109)

A uma solução de 548,0 mg (2,46 mmol) do álcool **108** em 2,5 mL de CH₂Cl₂ a 0 °C, adicionou-se, gota a gota, 0,36 mL (4,44 mmol) de cloreto de acrilóila e 1,25 mL (8,87 mmol) de Et₃N. O sistema foi aquecido até temperatura ambiente e após 2 h o precipitado formado foi filtrado sob celite e o solvente removido sob vácuo. O produto foi purificado por CC com sílica *flash*, utilizando hexano:AcOEt (9:1) como sistema eluente.

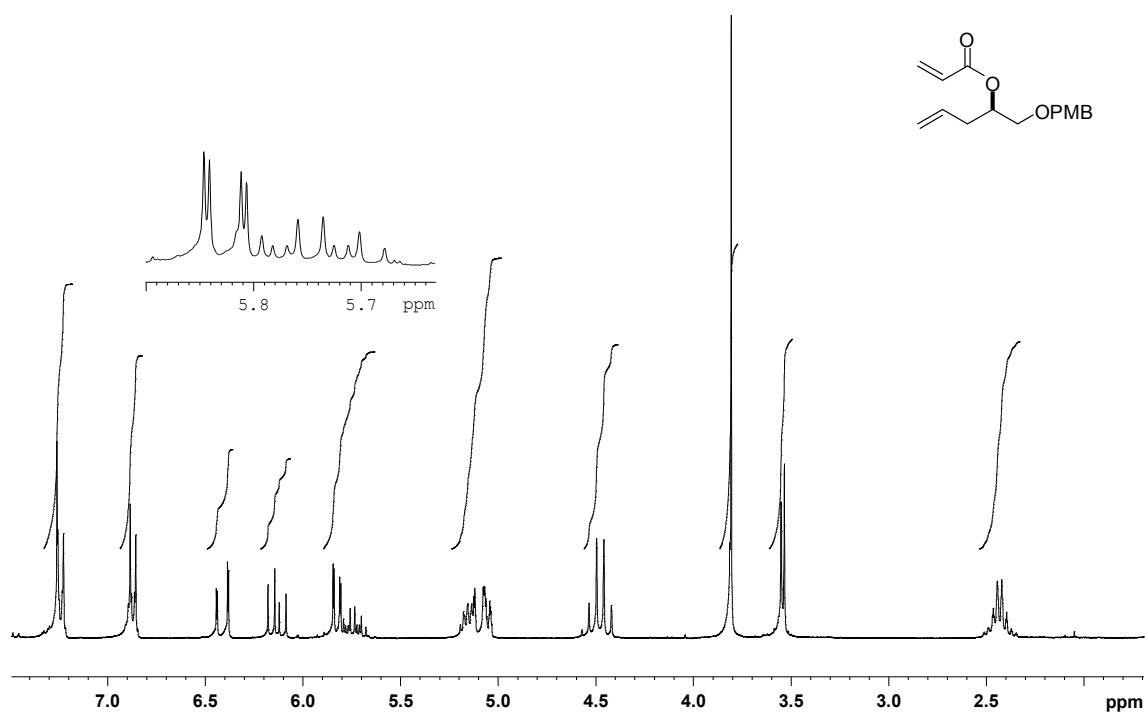
Rendimento: 611,8 mg (90%)

Aspecto físico: óleo amarelo viscoso

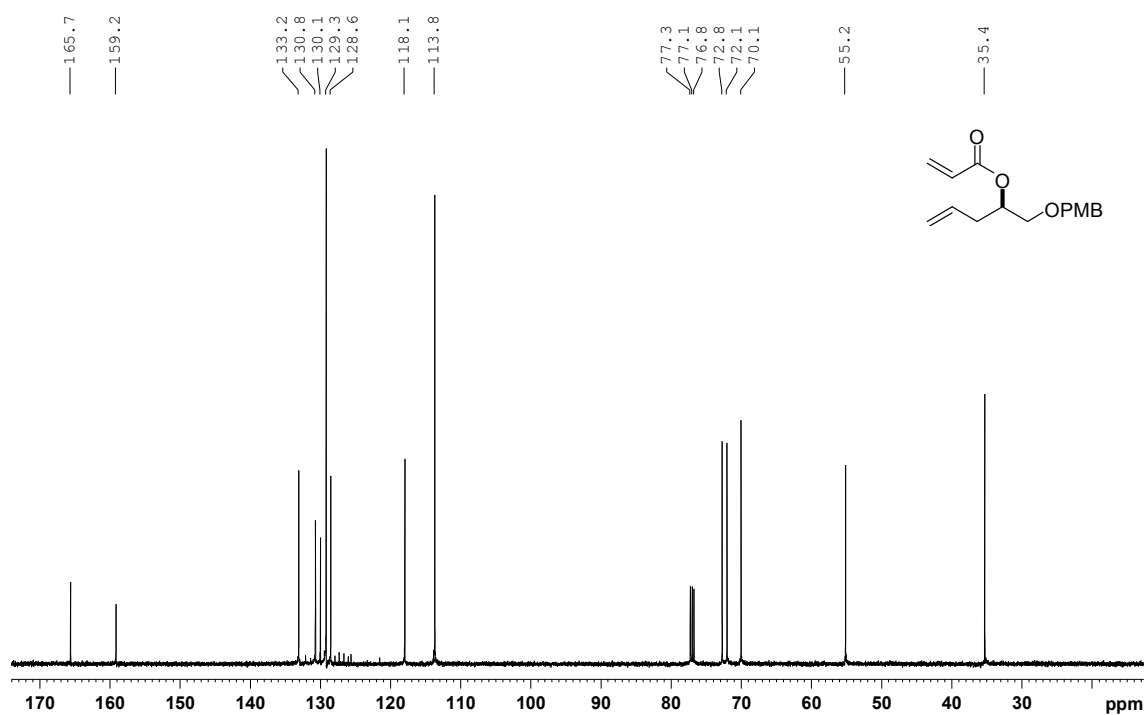
RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 2,43 (m, 2H); 3,51 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H); 3,57 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H); 3,81 (s, 3H); 4,44 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H); 4,52 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H); 5,05 (m, 2H); 5,15 (m, 1H); 5,75 (ddt, *J* = 16,8; 9,9 e 7,3 Hz, 1H); 5,83 (dd, *J* = 10,2 e 1,5 Hz, 1H); 6,13 (dd, *J* = 17,2 e 10,2 Hz); 6,41 (dd, *J* = 17,2 e 1,5 Hz, 1H); 7,05 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H); 7,24 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 35,4; 55,2; 70,1; 72,1; 72,8; 113,8; 118,1; 128,6; 129,3; 130,1; 130,8; 133,2; 159,2; 165,7.

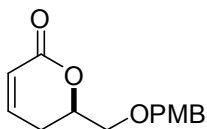
IV (filme, cm⁻¹): 2940, 2872, 1728, 1621, 1518, 1406, 1250, 1196, 1035.



Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃): composto 120



Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): composto 120



(R)-6-((4-metoxibenziloxi)metil)-5,6-di-hidropiran-2-ona (121)

A uma solução de 75,7 mg (0,092 mmol) do catalisador de Grubbs 1^a geração em 99,4 mL de CH₂Cl₂ a 60 °C, adicionou-se 245,1 mg (0,92 mmol) da olefina **120** dissolvida em 23,1 mL de CH₂Cl₂. A mistura permaneceu por 4 horas nessa temperatura e em seguida o solvente foi evaporado e o produto purificado por CC com sílica gel, utilizando hexano:AcOEt (1:1) como sistema eluente.

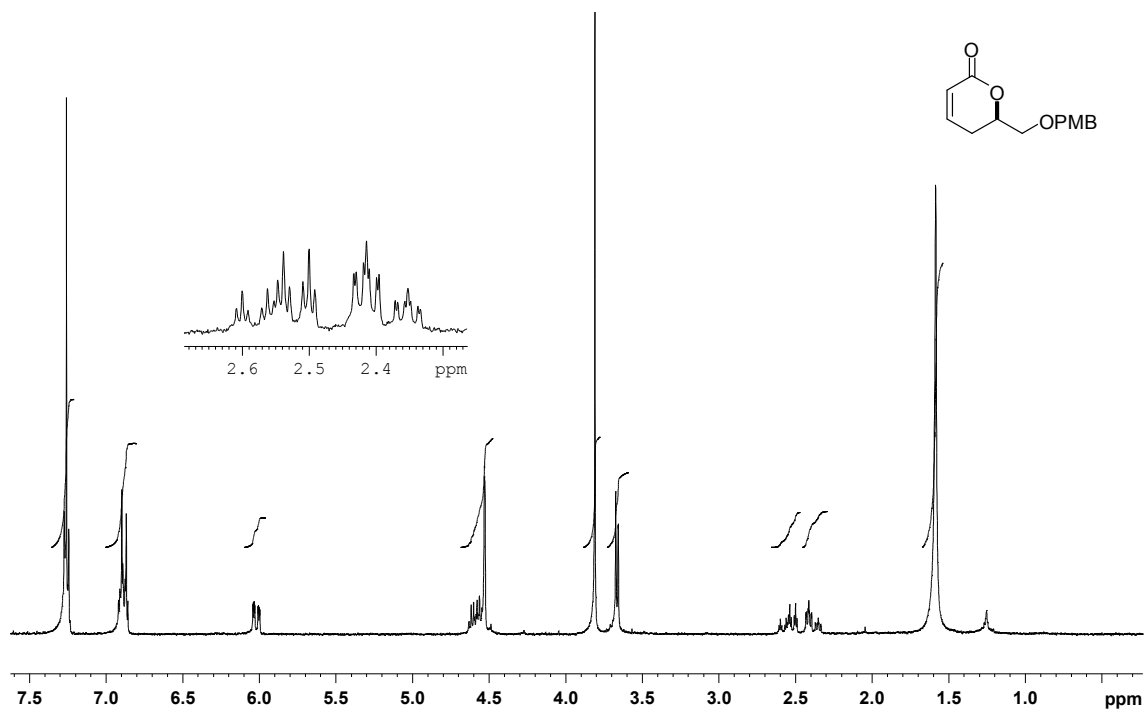
Rendimento: 162,2 mg (71%).

Aspecto físico: óleo amarelo escuro

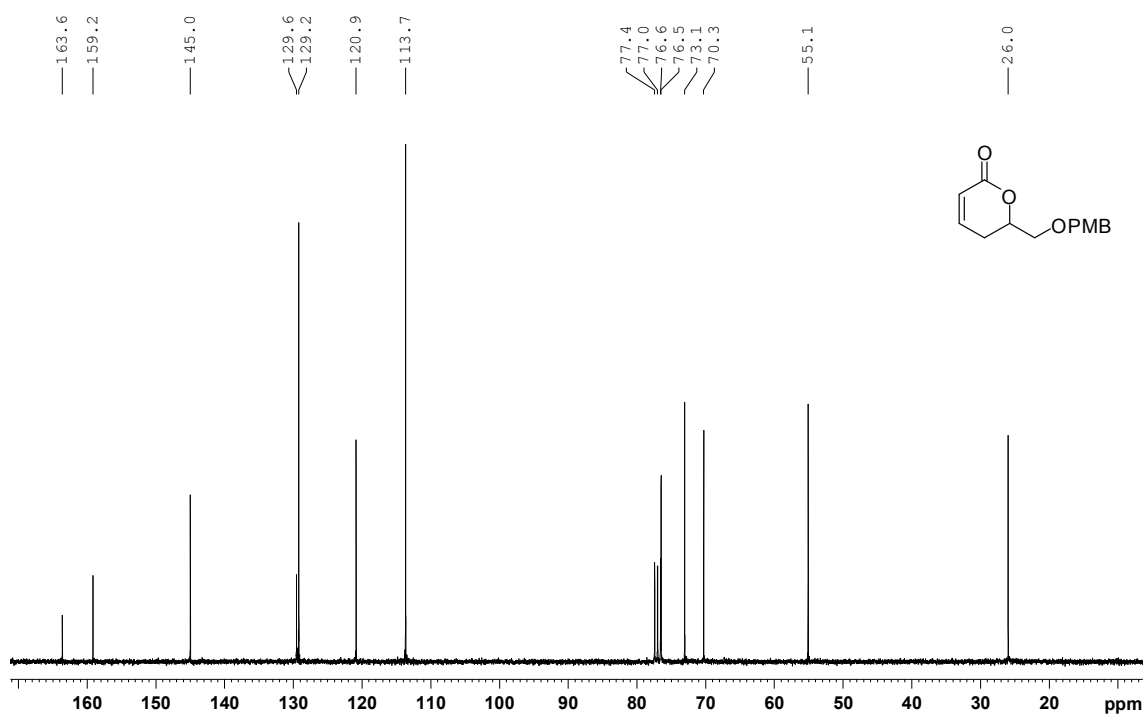
RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 2,38 (dtd, *J* = 18,7; 4,4 e 1,1 Hz, 1H); 2,55 (dtd, *J* = 18,7; 11,4 e 2,6 Hz, 1H); 3,53 (d, *J* = 10,9 Hz, 1H); 3,56 (d, *J* = 10,9 Hz, 1H); 3,82 (s, 3H); 4,56 (m, 3H); 6,02 (ddd, *J* = 9,5; 2,9 e 1,1 Hz, 1H) e 6,84 (m, 1H); 6,86 (d, *J* = 9,3 Hz, 2H); 7,23 (d, *J* = 9,3 Hz, 2H).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm): 26,0; 55,1; 70,3; 73,1; 76,5; 113,7; 120,9; 129,2; 129,6; 145,0; 159,2; 163,6.

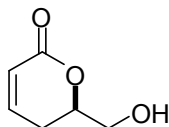
IV (filme, cm⁻¹): 2930, 2852, 1728, 1611, 1518, 1245, 1035, 815.



Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃): composto 121



Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): composto 121



(R)-6-(hidroximetil)-5,6-di-hidro-2H-piran-2-one (122)

A uma solução de 80,0 mg (0,32 mmol) do éter de PMB **121** em 3,0 mL de CH_2Cl_2 e 0,2 mL de H_2O , adicionou-se 81,0 mg (0,36 mmol) de DDQ a temperatura ambiente. Após 3h de reação acrescentou-se 2,0 mL de solução aquosa saturada de NaHCO_3 . As fases foram separadas e a fase orgânica foi lavada com 2,0 mL de salmoura. A fase aquosa foi extraída com 2,0 mL de CH_2Cl_2 e em seguida, a fase orgânica reunida foi seca com MgSO_4 anidro, filtrada e concentrada. O produto foi purificado por CC com sílica gel e CHCl_3 como eluente.

Rendimento: 34,4 mg (84%)

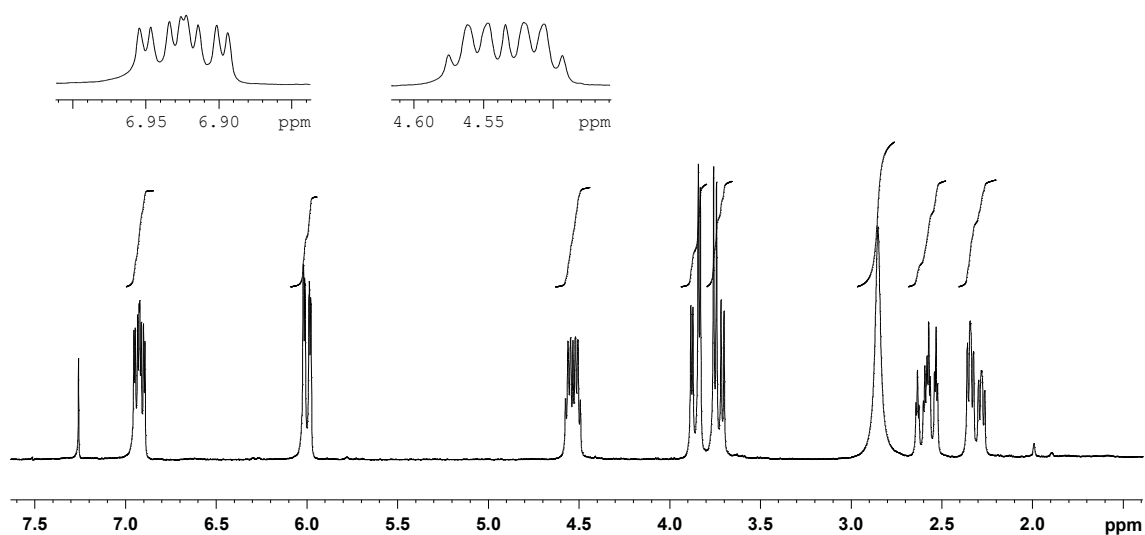
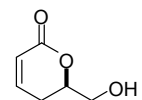
Aspecto físico: óleo amarelo viscoso

RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 2,31 (m, 1H); 2,58 (m, 1H); 2,85 (sl, 1H); 3,73 (dd, $J = 12,4$ e $5,1$ Hz, 1H); 3,86 (dd, $J = 12,4$ e $3,3$ Hz, 1H); 4,54 (m, 1H); 6,00 (ddd, $J = 9,9$; $1,8$ e $0,7$ Hz, 1H); 6,92 (ddd, $J = 9,9$; $6,2$ e $2,6$ Hz, 1H).

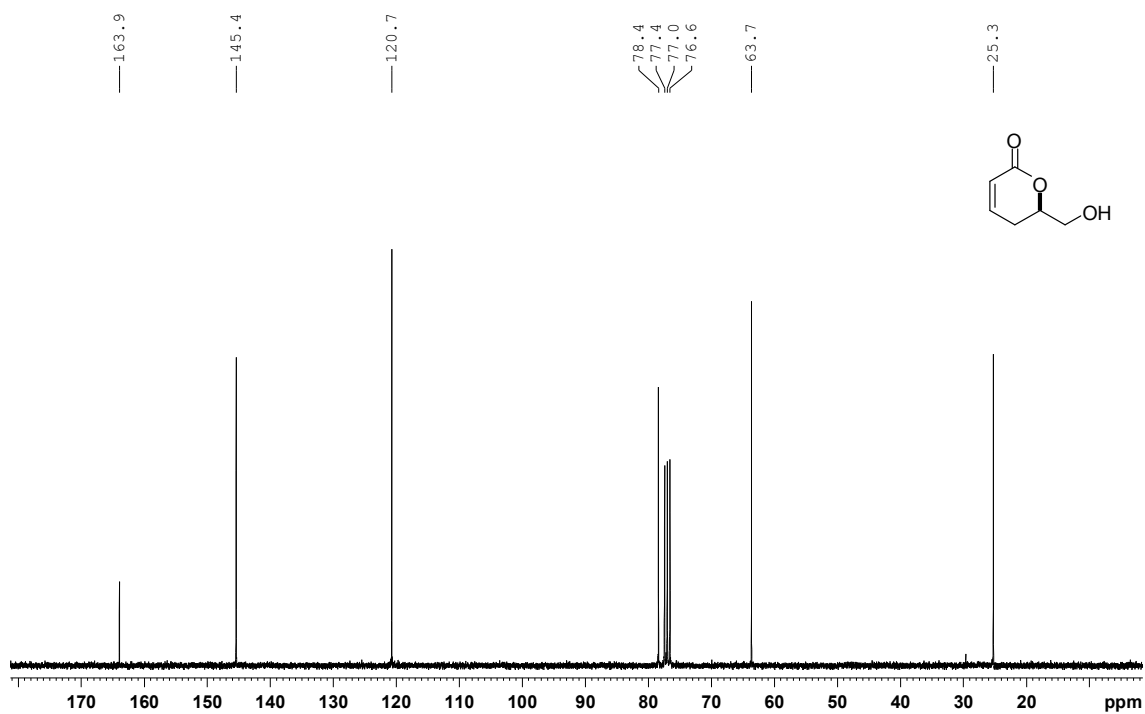
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 25,3; 63,7; 78,4; 120,7; 145,4; 163,9.

IV (filme, cm^{-1}): 3402, 3070, 2924, 1712, 1388, 1257, 1084, 1038, 820.

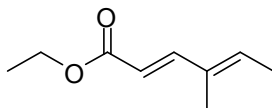
$[\alpha]_D^{25} = +173,9$ (c 1,0; CHCl_3); {lit.^{10c}, $[\alpha]_D^{25} = +175,3$ (c 1,0; CHCl_3)}



Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃): composto 122



Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): composto 122



(2E,4E) 4-metil-hexa-2,4-dienoato de etila (133)

Em um balão de 100,0 mL pesou-se 600,0 mg (15,0 mmol) de NaH 60% em óleo mineral. O balão foi vedado com septo de borracha e passou-se fluxo de N₂, quando acrescentou-se 20,0 mL de THF e 2,0 mL de DMF secos. A suspensão foi resfriada a 0 °C e adicionou-se, gota a gota, 2,6 mL (13,0 mmol) de fosfonoacetato de trietila (**132**), que ficou sob agitação por 15 minutos, em seguida, adicionou-se 1,0 mL (10,0 mmol) de *trans*-2-metil-but-2-enal (**126**) e elevou-se a temperatura reacional a temperatura ambiente. Após total consumo do material de partida, aproximadamente uma hora, adicionou-se 20,0 mL de solução aquosa saturada de NH₄Cl e, após agitação vigorosa, a solução bifásica teve suas fases separadas e a aquosa extraída com éter etílico (3 X 15,0 mL). As fases orgânicas reunidas foram secas com MgSO₄ anidro, filtradas e concentradas sob rotaevaporador. O produto foi submetido à cromatografia em coluna com sílica gel, utilizando hexano:AcOEt 95:5 como sistema eluente.

Rendimento: 1,54 g (100%)

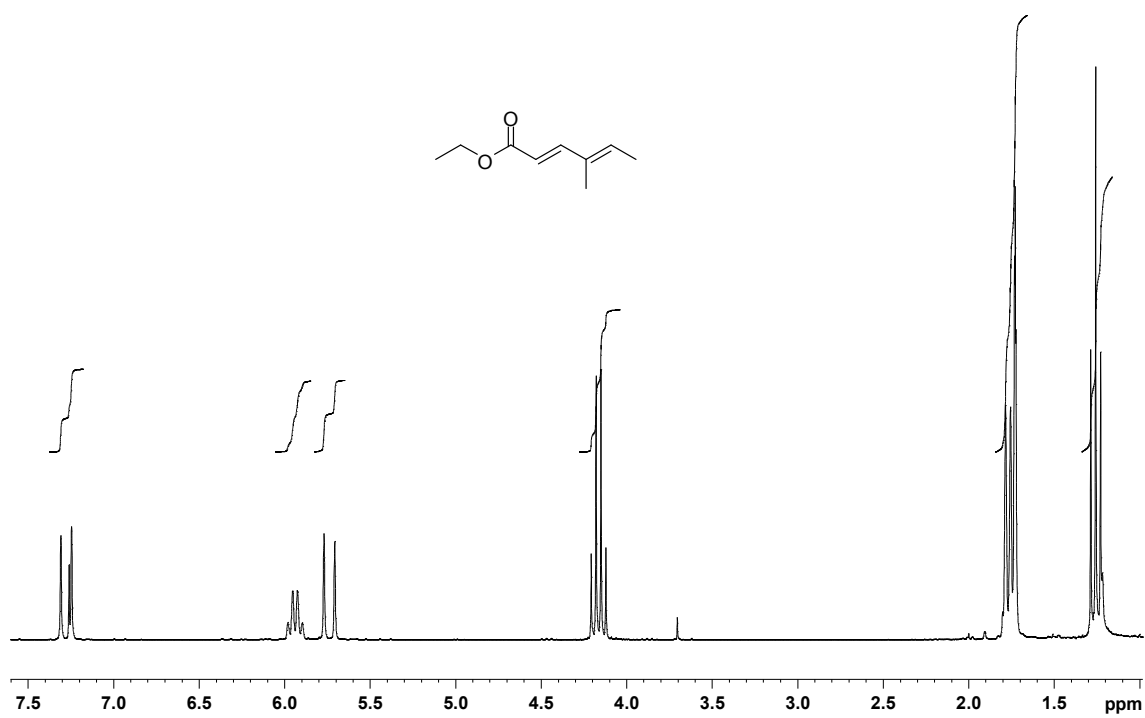
Aspecto físico: líquido amarelo claro

RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) δ (ppm): 1,23 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H); 1,70 (s, 3H); 1,76 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H); 4,13 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H); 5,70 (d, *J* = 15,7 Hz, 1H); 5,91 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H); 7,24 (d, *J* = 15,7 Hz, 1H).

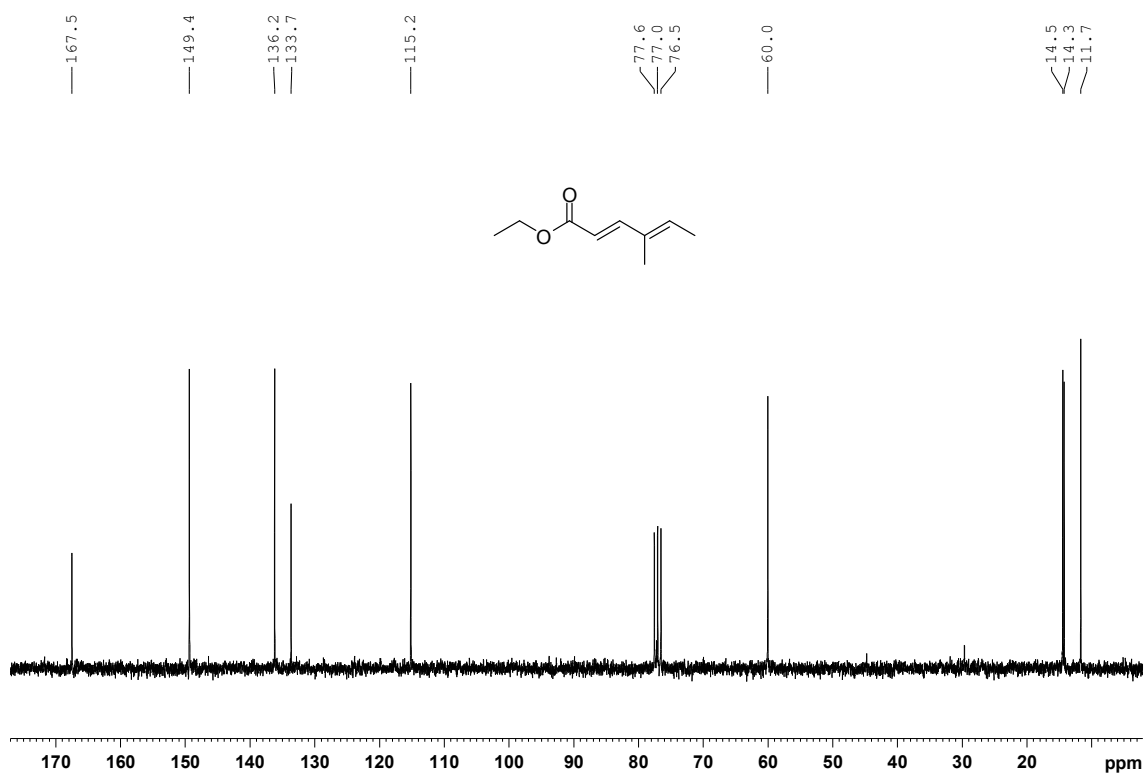
RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) δ (ppm): 11,7; 14,3; 14,5; 60,0; 115,2; 133,7; 136,2; 149,4; 167,5.

IV (filme, cm⁻¹): 2994, 2925, 2862, 1719, 1680, 1616, 1308, 1167, 1030.

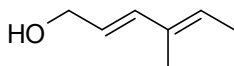
EMAR: Calculado para C₉H₁₄O₂: 154,0994; Obtido: 154,0990.



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 133



Espectro de RMN-¹³C (62,5 MHz, CDCl₃): composto 133



(2E,4E)-4-metil-hexa-2,4-dien-1-ol (134)

Em um balão de 125,0 mL seco pesou-se 700,0 mg (4,5 mmol) do éster **133**, em seguida o balão foi fechado com um septo de borracha e deixou-se passar fluxo de N₂. O éster foi então diluído em 50,0 mL de CH₂Cl₂ e a solução foi resfriada a -78 °C (OBS: é necessário aumentar o fluxo de nitrogênio nessa etapa). À reação foram adicionados 2,4 mL (13,6 mmol) de DIBAL-H via seringa. A reação permaneceu sob agitação nessa temperatura por 30 minutos, quando se observou por CCD o desaparecimento do material de partida. A solução foi aquecida a 0 °C e adicionou-se 5,0 mL de AcOEt cuidadosamente, em seguida, adicionou-se 20,0 mL de solução aquosa de HCl 1M. A emulsão permaneceu sob forte agitação até ser desfeita completamente (≈ 2,0 h). As fases foram separadas e a aquosa extraída com CH₂Cl₂ (3 x 15,0 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com MgSO₄ anidro, filtradas e concentradas sob rotaevaporador com aquecimento do banho em torno de 40 °C. O concentrado foi purificado por meio de coluna cromatográfica em sílica flash, utilizando hexano:acetato de etila 7:3 como sistema eluente.

Rendimento: 494,0 mg (97%)

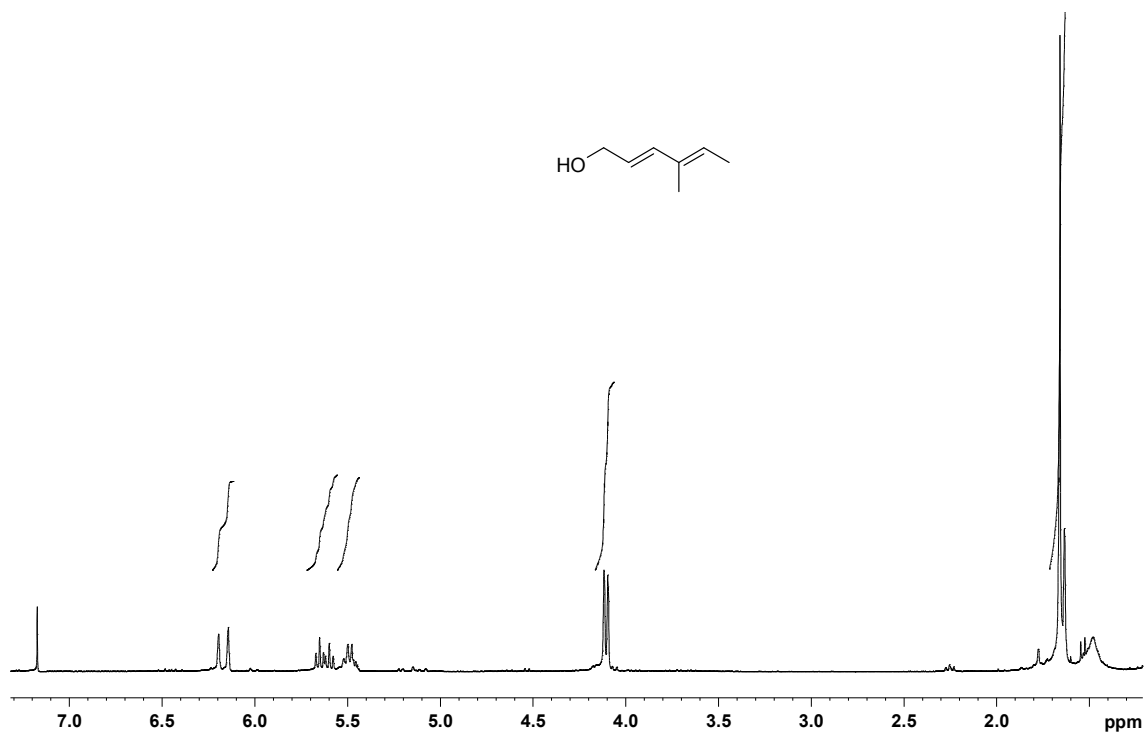
Aspecto físico: óleo amarelo

RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) δ (ppm): 1,74 (m, 6H); 4,19 (d, *J* = 6,2 Hz, 1H); 5,50 (q, *J* = 6,6 Hz, 1H); 5,65 (dt, *J* = 15,8 e 6,2 Hz, 1H); 6,25 (d, *J* = 5,8 Hz, 1H).

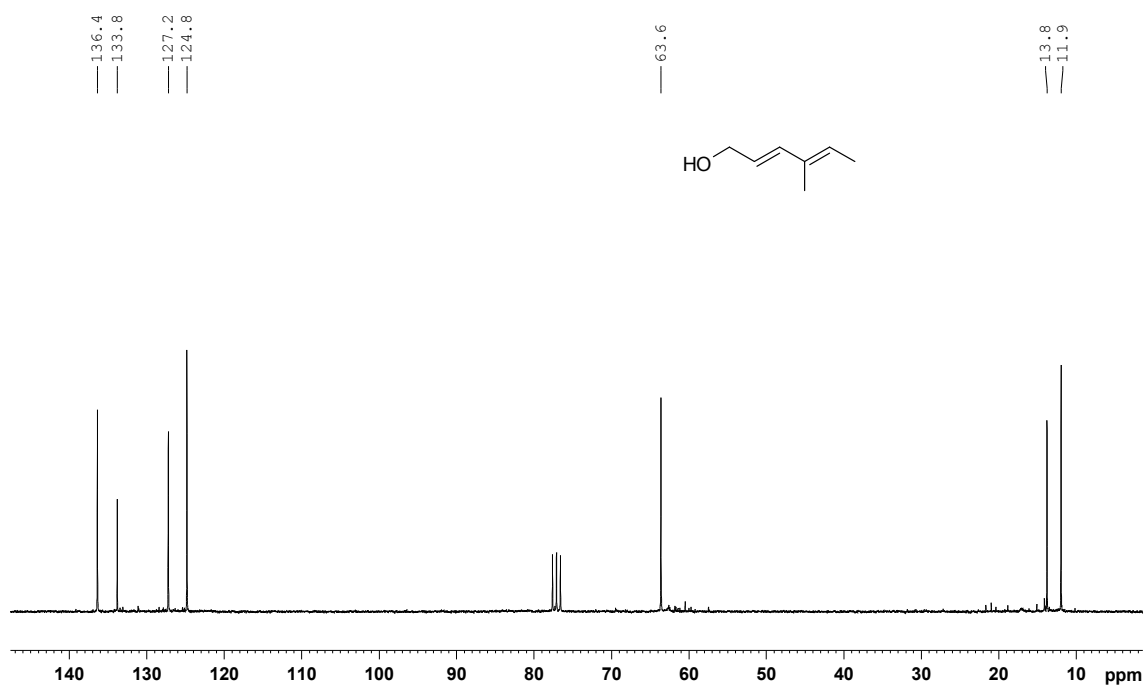
RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) δ (ppm): 11,9; 13,8; 63,6; 124,8; 127,2; 133,8; 136,4.

IV (filme, cm⁻¹): 3438, 2940, 2857, 1694, 1450, 1382, 1128, 966.

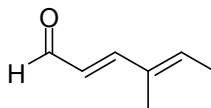
EMAR: Calculado para C₇H₁₂O: 112,0808; Obtido: [M-18] = 94,0770.



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 134



Espectro de RMN-¹³C (62,5 MHz, CDCl₃): composto 134



(2E,4E)-4-metil-hexa-2,4-dienal (127)

Em um balão de 125,0 mL, previamente flambado, adicionou-se 1,1 mL (12,8 mmol) de cloreto de oxalila e 40,0 mL de CH₂Cl₂ seco. A solução foi posta a -78 °C e permaneceu sob agitação e fluxo de N₂; em seguida, adicionou-se, gota a gota, 2,0 mL de DMSO seco. A reação permaneceu sob agitação por 15 minutos a -78 °C e em seguida, adicionou-se 1,11 g (9,82 mmol) do álcool **134** dissolvidos em 5,0 mL de CH₂Cl₂ seco, via cânula. Novamente a reação permaneceu sob agitação por 15 minutos. Transcorrido este período, acrescentou-se 6,8 mL (49,1 mmol) de Et₃N. Após 30 minutos de agitação, verificou-se total consumo do material de partida (por meio de CCD), então adicionou-se à solução 70,0 mL de éter etílico e 30,0 mL de solução aquosa saturada de NH₄Cl. A mistura heterogênea foi agitada a temperatura ambiente e em seguida as fases foram separadas. A fase aquosa foi extraída com éter etílico (3 x 30,0 mL) e depois de reunidas as fases orgânicas foram lavadas com 20,0 mL de salmoura, secas com MgSO₄ anidro, filtradas e concentradas em rotaevaporador. O bruto reacional foi filtrado através de uma pequena coluna contendo alumina neutra e foi utilizado hexano/AcOEt 1:1 como sistema eluente.

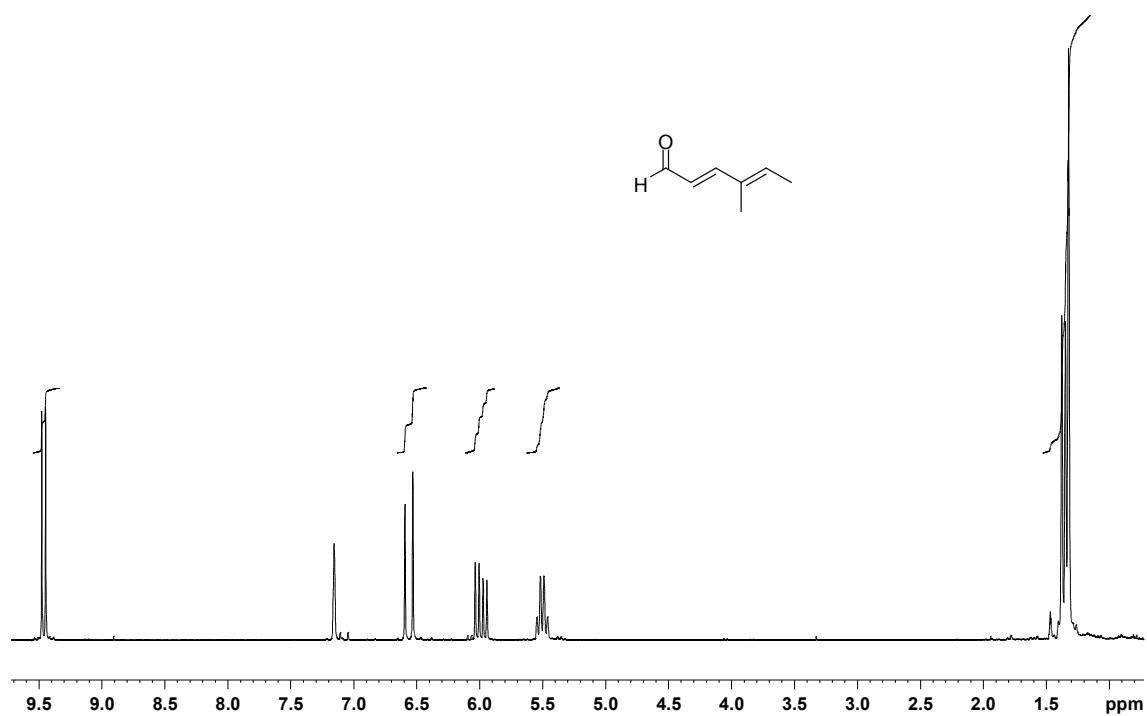
Rendimento: 1,02 g (95%).

Aspecto físico: óleo amarelo

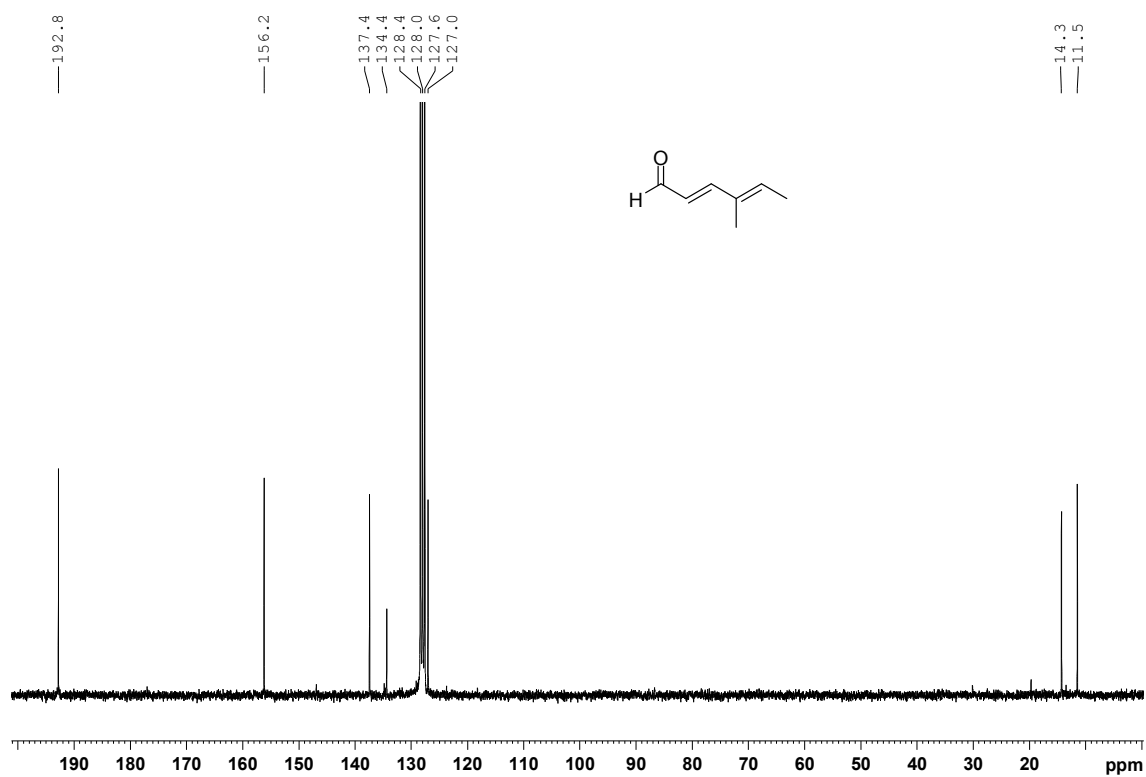
RMN de ¹H (C₆D₆, 250 MHz) δ (ppm): 1,32 (s, 3H); 1,36 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H); 5,50 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H); 5,99 (dd, *J* = 15,6 e 7,7 Hz, 1H); 6,55 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H); 9,46 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H).

RMN de ¹³C (C₆D₆, 62,5 MHz) δ (ppm): 11,5; 14,3; 127,0; 134,4; 137,4; 156,2; 192,8.

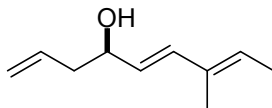
IV (filme, cm⁻¹): 2999, 2925, 2813, 2730, 1689, 1631, 1445, 1386, 1142, 966, 795.



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 127



Espectro de RMN-¹³C (62,5 MHz, CDCl₃): composto 127



(*R,5E,7E*)-7-metilnona-1,5,7-trien-4-ol (128a)

Em um balão de 25,0 mL com vidro tipo âmbar, pesou-se (dentro de uma *dry box*) 325,6 mg (0,52 mmol; 0,3 eq.) de (*R*)-BINAP e 134,4 mg (0,52 mmol; 0,3 eq.) de AgOTf. Os sólidos foram dissolvidos em 5,3 mL de THF e a solução permaneceu sob agitação a temperatura ambiente e atmosfera de N₂ por 15 minutos. Uma solução de 192,0 mg (1,74 mmol) do aldeído **127** em 1,5 mL de THF foi adicionado a reação, que em seguida, foi resfriada a -20 °C e adicionou-se 0,6 mL (1,91 mmol) de aliltri-*n*-butilestanana. A mistura reacional permaneceu sob agitação a -20 °C por 20 horas. Transcorrido esse período, adicionou-se 8,0 mL de solução aquosa saturada de NaHCO₃. A suspensão foi agitada por uma hora e um precipitado marrom foi verificado. As duas fases foram filtradas em celite e em seguida separadas. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ filtrada e concentrada em rotaevaporador. O produto foi purificação por cromatografia em coluna de sílica *flash* e utilizado hexano/AcOEt 9:1 como sistema eluente.

Rendimento: 222,3 mg (64%); *rd* = 97:3

Aspecto físico: óleo amarelo

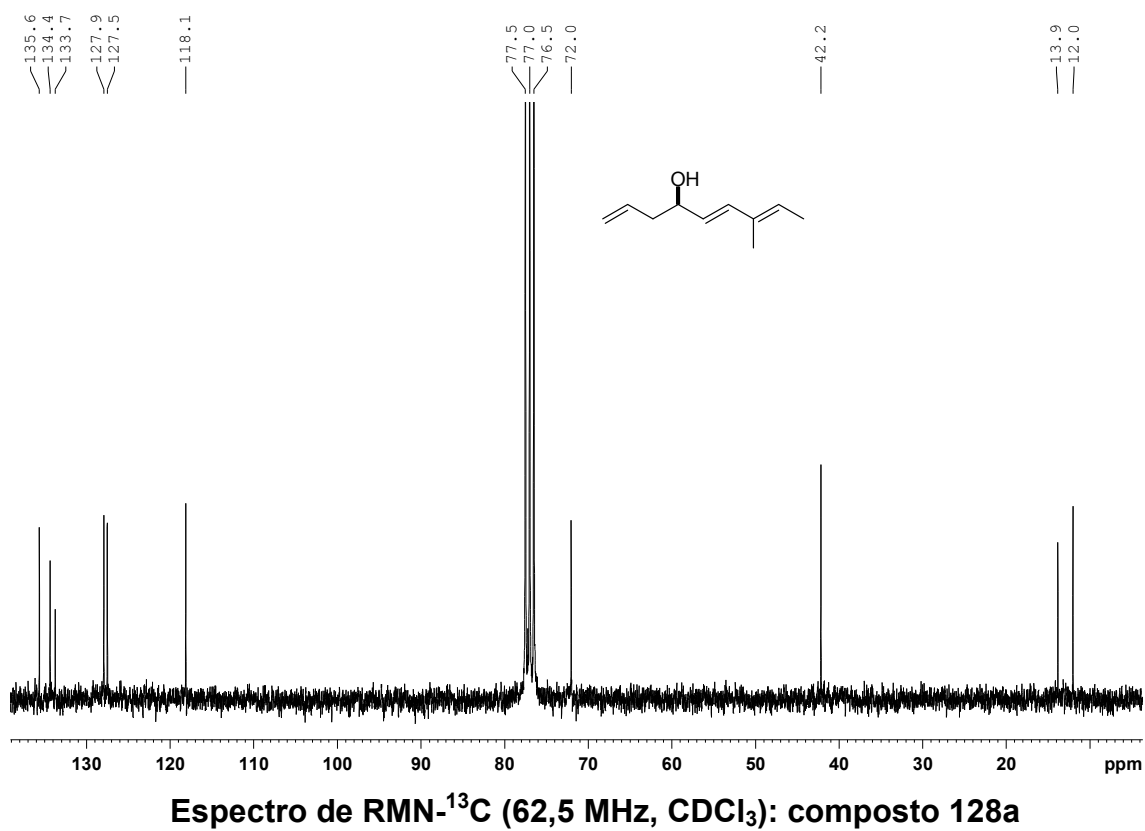
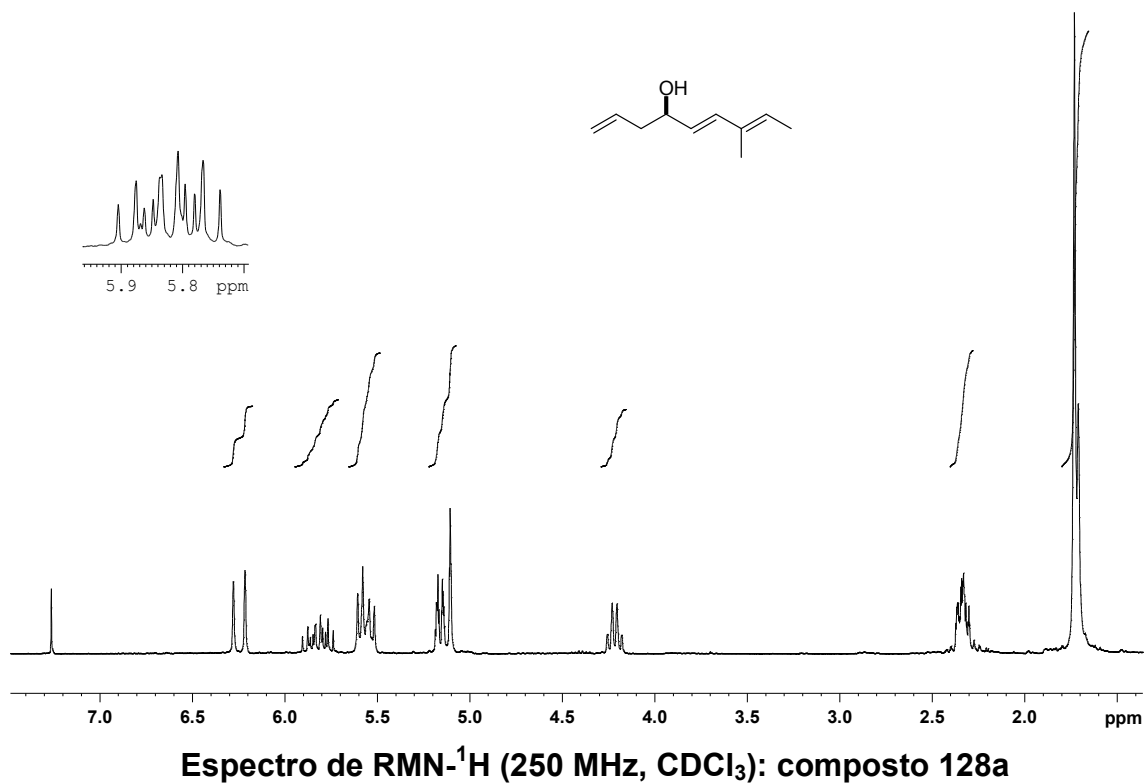
RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) δ (ppm): 1,71 (s, 3H); 1,73 (s, 3H); 2,33 (m, 2H); 4,21 (q, *J* = 6,3 Hz, 1H); 5,14 (m, 2H); 5,55 (m, 2H); 5,81 (m, 1H); 6,25 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H).

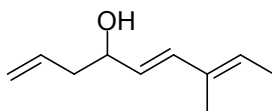
RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) δ (ppm): 12,0; 13,9; 42,2; 72,0; 118,1; 127,5; 127,9; 133,7; 134,4; 135,6.

IV (filme, cm⁻¹): 3375, 3072, 2989, 2920, 2857, 1645, 1440, 1382, 1030, 971.

EMAR: Calculado para C₁₀H₁₆O: 134,1095; Obtido: [M-18] = 134,1105.

[α]_D²⁵ = + 20,0 (c 9,0; CHCl₃).

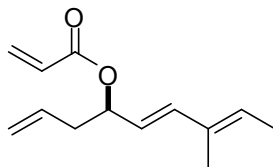




(5E,7E)-7-metilnona-1,5,7-trien-4-ol (±)-(128)

Em um balão contendo 444,0 mg (4,03 mmol) do aldeído **127** dissolvido em 20,2 mL de THF seco, a -78°C , acrescentou-se 6,0 mL (6,05 mmol) de uma solução 1 M de brometo de alilmagnésio em éter etílico. A solução permaneceu sob agitação nessa temperatura por 30 minutos e em seguida, o banho de gelo seco/etanol foi removido e adicionou-se 10,0 mL de solução aquosa saturada de NH_4Cl . As fases foram separadas e a aquosa foi extraída com porções de éter etílico (3 x 10,0 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com MgSO_4 anidro, filtradas e concentradas. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando hexano/ AcOEt 8:2 como sistema eluente..

Rendimento: 739,0 mg (97%)



Acrilato de (*R,5E,7E*)-7-metilnona-1,5,7-trien-4-ila (129a)

A uma solução de 320,0 mg (2,10 mmol) do álcool **128a** em 6,0 mL de CH₂Cl₂ e a 0 °C, adicionou-se 0,4 mL (2,94 mmol) de Et₃N, seguida da adição de 0,2 mL (2,52 mmol) de cloreto de acrilóila. A reação foi posta a temperatura ambiente e permaneceu sob agitação por 1 hora. Após esse período, o solvente foi removido em rotaevaporador e o produto foi purificado por cromatografia líquida em coluna de sílica gel, utilizando hexano/AcOEt 9:1 como sistema eluente.

Rendimento: 320,6 mg (74%)

Aspecto físico: óleo amarelo

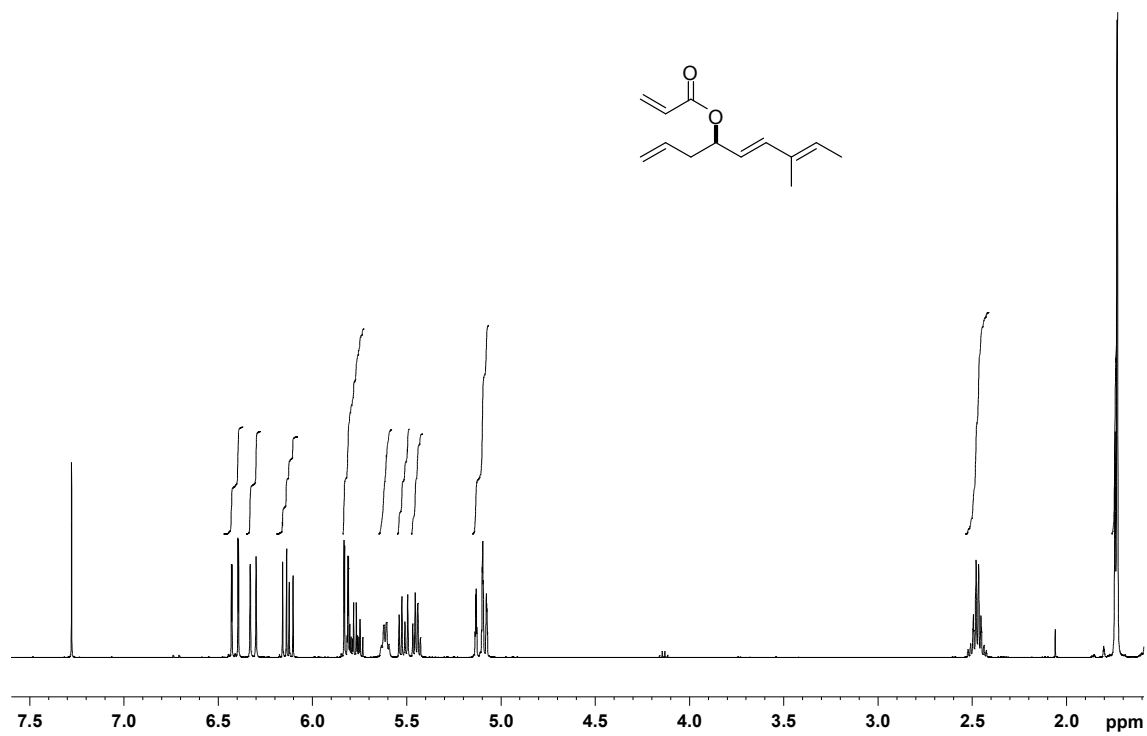
RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz) δ (ppm): 1,73 (s, 3H); 1,74 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H); 2,47 (m, 2H); 5,09 (m, 2H); 5,45 (q, *J* = 6,5 Hz, 1H); 5,52 (dd, *J* = 15,4 e 7,4 Hz, 1H); 5,61 (m, 1H); 5,77 (ddt, *J* = 17,1; 10,2 e 7,0 Hz, 1H); 5,82 (dd, *J* = 10,2 e 1,5 Hz, 1H); 6,13 (dd, *J* = 17,3 e 10,2 Hz, 1H); 6,31 (d, *J* = 15,4 Hz, 1H); 6,41 (dd, *J* = 17,3 e 1,4 Hz, 1H).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) δ (ppm): 11,9; 13,8; 39,3; 74,4; 117,8; 123,3; 128,5; 128,8; 130,4; 133,3; 133,5; 137,9; 165,4.

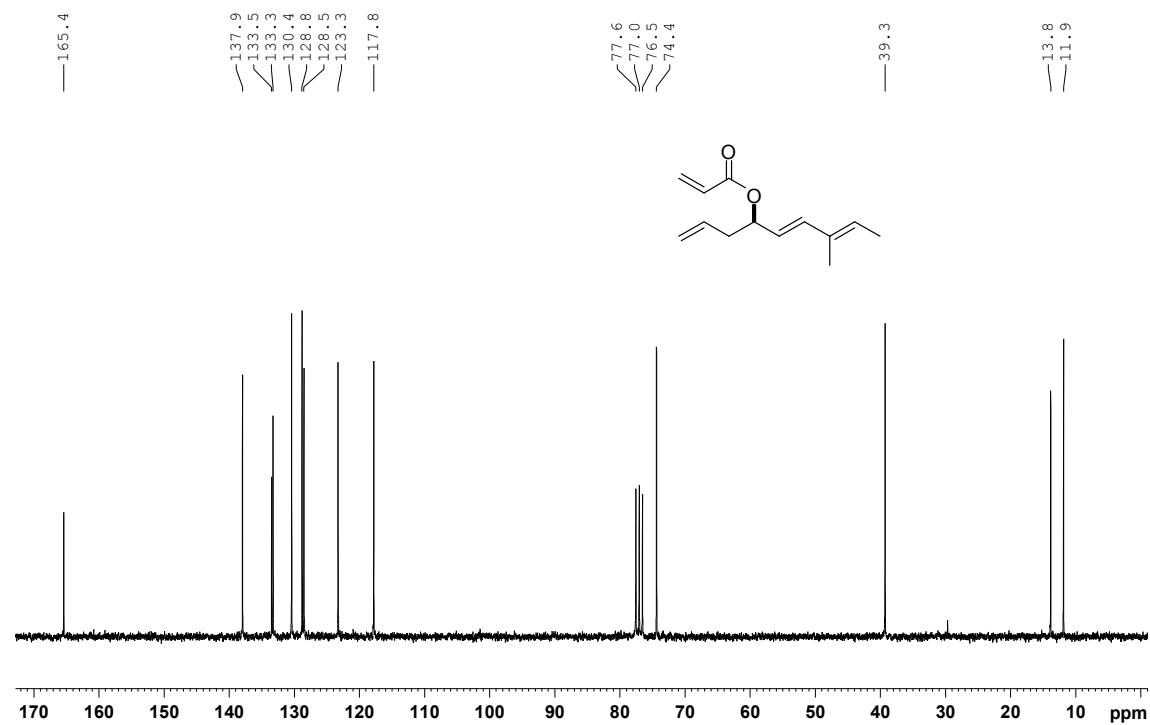
IV (filme, cm⁻¹): 3077, 3043, 2989, 2911, 2857, 1728, 1641, 1411, 1274, 1191, 971.

EMAR: Calculado para C₁₃H₁₈O₂: 206,1307; Obtido: [M-72] = 134,1060.

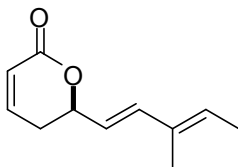
[α]_D²⁵ = -11,0 (c 7,0; CHCl₃).



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 129a



Espectro de RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃): composto 129a



(R)-6-((1E,3E)-3-metilpenta-1,3-dienil)-5,6-diidro-2H-piran-2-ona (130a)

A uma solução 470,0 mg (2,28 mmol) do éster **129a** em 228,0 mL de CH₂Cl₂ à temperatura de 55-60 °C adicionou-se 189,3 mg (0,23 mmol) do catalisador de Grubbs de 1ª geração dissolvidos em 57,0 mL de CH₂Cl₂. A mistura reacional ficou sob aquecimento por 8 horas. Após este período o solvente foi evaporado e o produto purificado por cromatografia em coluna de sílica gel e hexano/AcOEt 7:3 como fase eluente.

Rendimento: 317,0 mg (78%)

Aspecto físico: óleo amarelo escuro

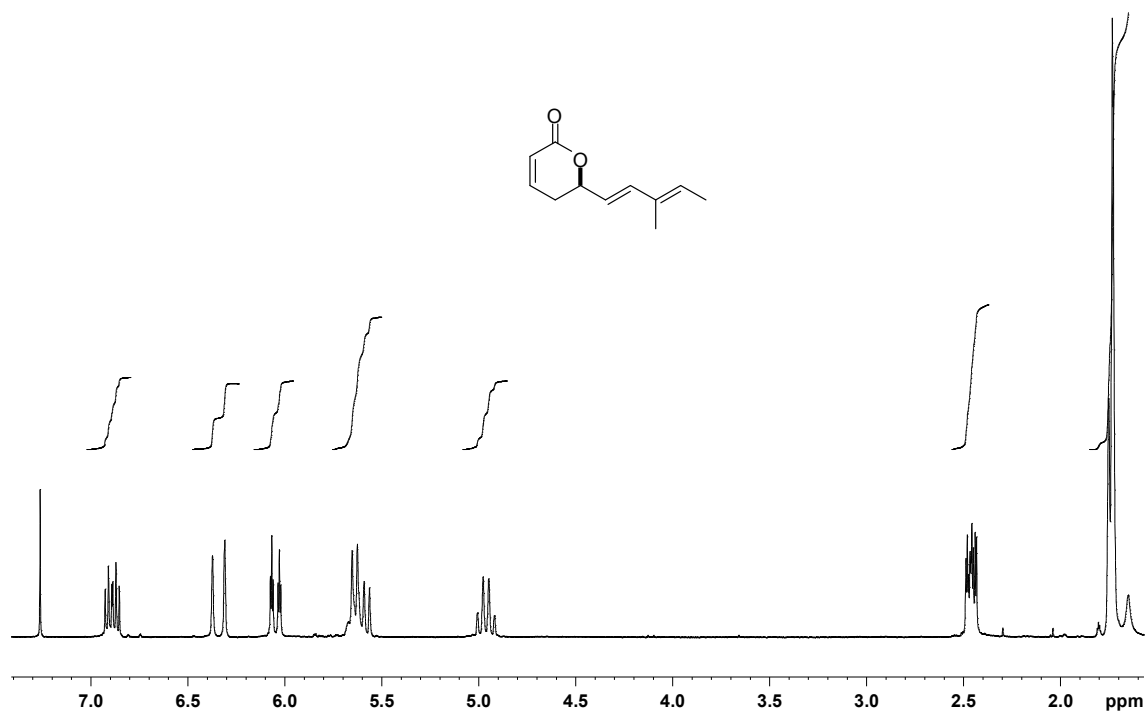
RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) δ (ppm): 1,72 (m, 6H); 2,45 (m, 2H); 4,95 (m, 1H); 5,59 (m, 2H); 6,03 (dt, *J* = 9,8 e 1,6 Hz, 1H); 6,33 (d, *J* = 15,7 Hz, 1H), 6,88 (dt, *J* = 9,8 e 4,2 Hz, 1H).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) δ (ppm): 11,9; 13,9; 30,0; 78,6; 121,5; 122,1; 130,2; 133,3; 138,4; 144,8; 164,2.

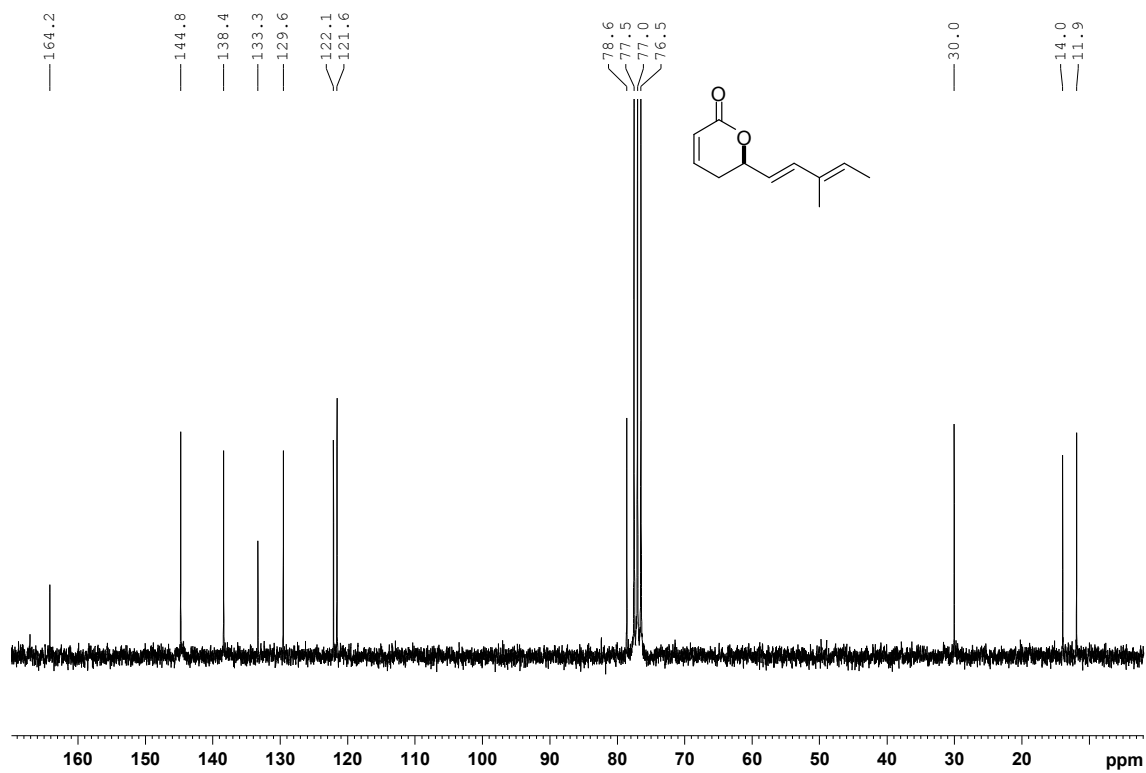
IV (filme, cm⁻¹): 3035, 2983, 2922, 2866, 1724, 1649, 1385, 1244, 1146, 1022, 968, 814.

EMAR: Calculado para C₁₁H₁₄O₂: 178,0994; Obtido: 178,0978.

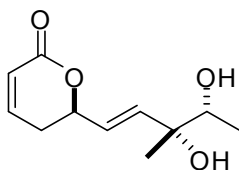
[α]_D²⁵ = + 89,0 (c 1,0; CHCl₃).



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 130a



Espectro de RMN-¹³C (62,5 MHz, CDCl₃): composto 130a



**(R)-6-((3R,4R,E)-3,4-di-hidroxi-3-metilpent-1-enil)-5,6-di-hidro-2H-piran-2-ona
(135a)**

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 3,33 g (10,1 mmol) de $K_3Fe(CN)_6$, 1,40 g (10,1 mmol) de K_2CO_3 , 262,2 mg (0,34 mmol) de $(DHQD)_2-PHAL$, 12,4 mg (0,03 mmol) de $K_2OsO_2(OH)_4$ e 640,4 mg (6,73 mmol) de $MeSO_2NH_2$, em seguida, dissolveu-se a mistura sólida em 35,0 mL de *t*-BuOH:H₂O (1:1). A mistura permaneceu sob agitação vigorosa por 15 minutos até dissolução total dos reagentes, em seguida, resfriou-se a solução à 0 °C e acrescentou-se 600,0 mg (3,37 mmol) da olefina **130a** dissolvida em 2,0 mL da mistura 1:1 de *t*-BuOH:H₂O. Após 12 h de reação adicionou-se 3,0 g NaCl sólido e 10,0 mL de AcOEt e a mistura heterogênea foi agitada vigorosamente a temperatura ambiente por 1h, em seguida as fases foram separadas. A fase aquosa foi lavada com AcOEt (3 x 20,0 mL) e as fases orgânicas combinadas foram secas com $MgSO_4$ anidro, filtradas e concentradas. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica “flash”, utilizando AcOEt com eluente.

Rendimento: 576,4 mg (74%); *dr* ≥ 95:5

Aspecto físico: óleo amarelo viscoso

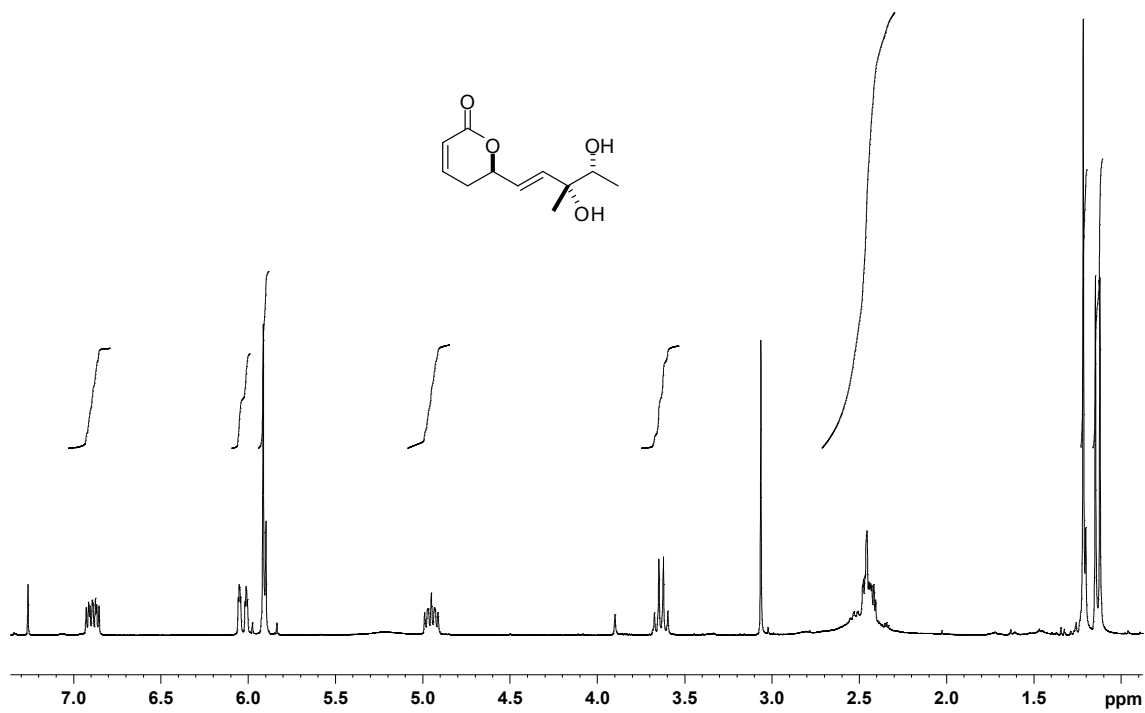
RMN de 1H ($CDCl_3$, 250 MHz) δ (ppm): 1,14 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H); 1,22 (d, *J* = 3,5 Hz, 3H); 2,46 (m, 3H); 3,08 (sl, 1H); 3,64 (m, 1H); 4,96 (m, 1H); 5,91 (m, 2H); 6,04 (dt, *J* = 1,5 e 9,7 Hz, 1H); 6,90 (m, 1H).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, 62,5 MHz) δ (ppm): 16,9; 21,8; 29,8; 72,9; 75,0; 76,5; 121,4; 126,3; 138,4; 145,0; 164,2.

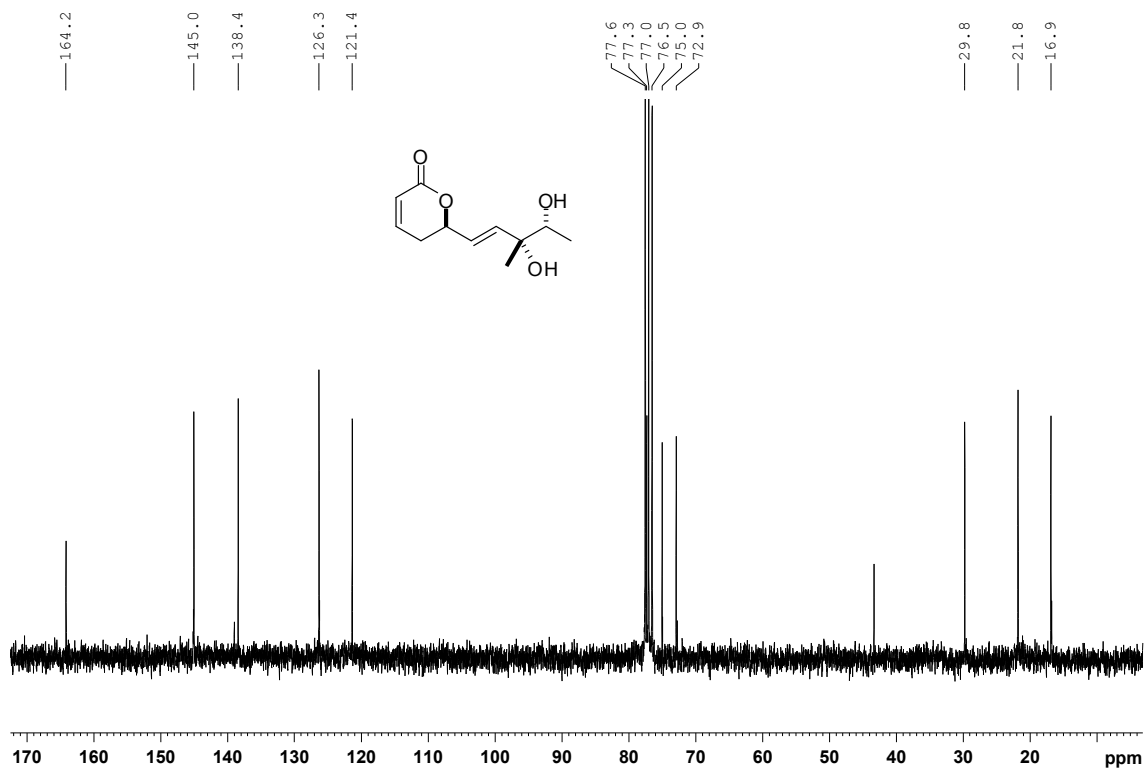
IV (filme, cm^{-1}): 3442; 3056; 2985; 2937; 1720; 1384; 1266; 975.

EMAR: Calculado para $C_{11}H_{16}O_4$: 212,1049; Obtido: [M-36] = 176,0796.

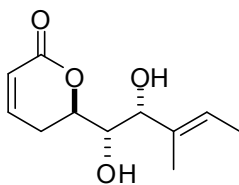
$[\alpha]_D^{25} = +49,0$ (c 1,0; $CHCl_3$).



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 135a



Espectro de RMN-¹³C (62,5 MHz, CDCl₃): composto 135a



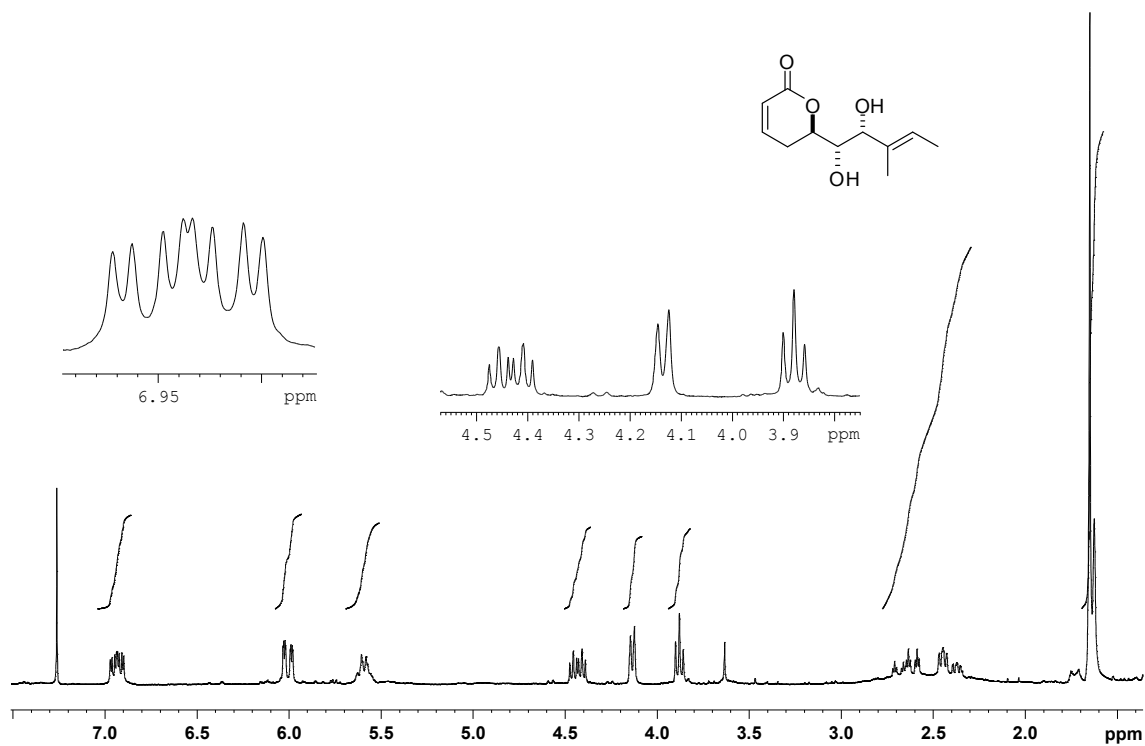
**(R)-6-((1S,2R,E)-1,2-di-hidroxi-3-metilpent-3-enil)-5,6-di-hidro-2H-piran-2-ona
(136)**

Aspecto físico: óleo amarelo

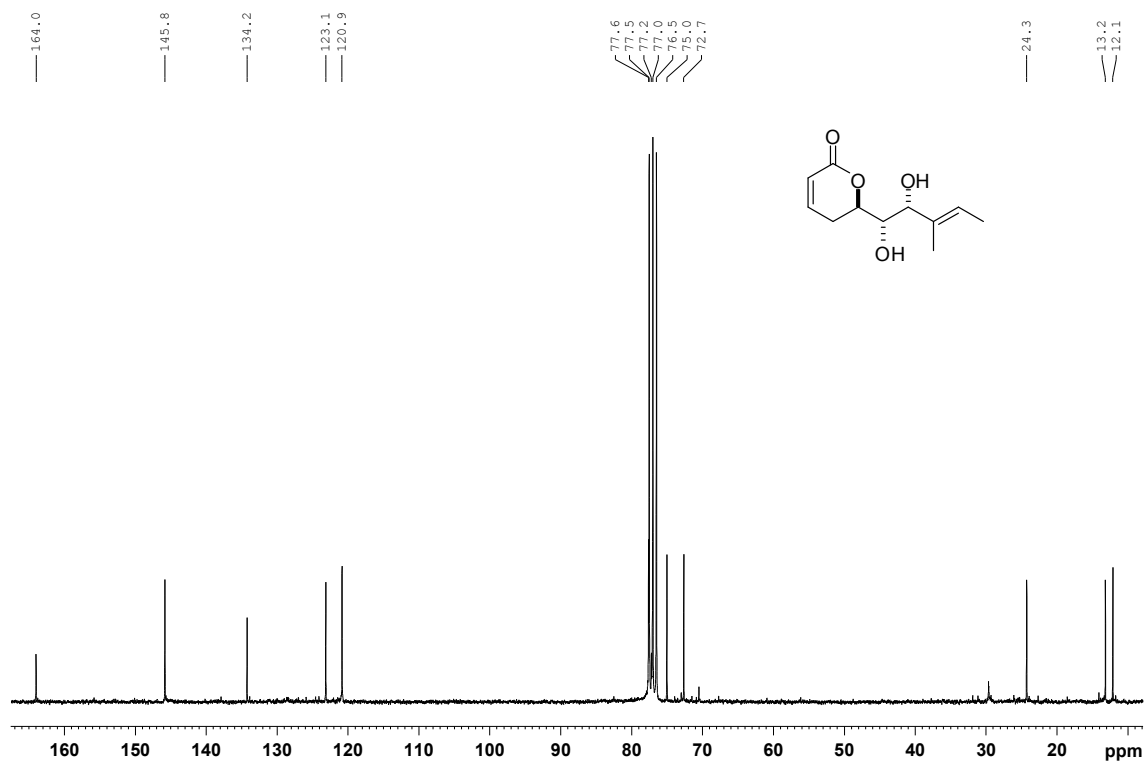
RMN de ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) δ (ppm): 1,63 (d, $J = 6,1$ Hz, 3H); 1,64 (s, 3H); 2,52 (m, 4H); 3,88 (t, $J = 5,3$ Hz, 1H); 4,14 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H); 4,43 (dt, $J = 12,0$ e 9,3 Hz, 1H); 5,60 (q, $J = 6,1$ Hz, 1H); 6,00 (ddd, $J = 9,8$; 2,7 e 0,9 Hz, 1H); 6,93 (ddd, $J = 9,8$; 6,1; 2,4 Hz, 1H).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 62,5 MHz) δ (ppm): 12,1; 13,2; 24,3; 72,7; 75,0; 77,6; 120,9; 123,2; 134,2; 145,8; 164,0.

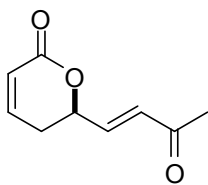
EMAR: Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_4$: 212,1049; Obtido: $[\text{M}-36] = 176,0813$.



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 136



Espectro de RMN-¹³C (62,5 MHz, CDCl₃): composto 136



(*R,E*)-6-(3-oxobut-1-enil)-5,6-di-hidro-2*H*-piran-2-ona (16)

A uma solução de 100,0 mg (0,47 mmol; 1,0 eq.) do diol **17** em 4,7 mL de CH₂Cl₂, acrescentou-se peneira molecular e a reação permaneceu sob agitação por 10 minutos. Transcorrido esse período, adicionou-se 72,0 mg (0,61 mmol; 1,3 eq.) de NMO e a solução permaneceu sob agitação por mais 10 minutos. Em seguida, acrescentou-se uma ponta de espátula de TPAP, o que tornou a solução esverdeada. Após todo material de partida ter sido consumido (caso não tenha sido consumido em 15 minutos, acrescentar mais um pouco de TPAP) a solução foi filtrada em uma pequena coluna contendo sílica gel e passou-se 50,0 mL de AcOEt para garantir que o material não ficasse retido na sílica. O solvente foi evaporado e o produto obtido.

Rendimento: 88,0 mg (86%).

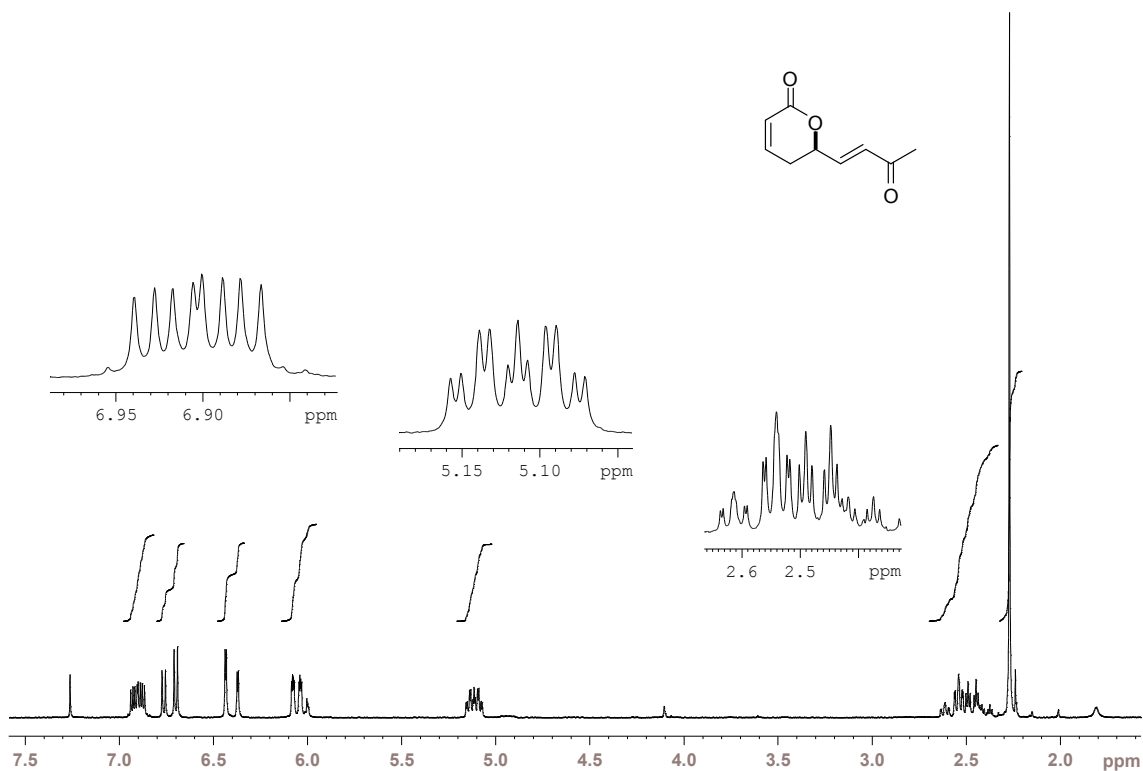
Aspecto físico: óleo amarelo viscoso

RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) δ (ppm): 2,27 (s, 3H); 2,43 (ddt, *J* = 18,3; 10,7 e 2,7 Hz, 1H); 2,57 (dtd, *J* = 18,3; 5,8 e 1,2 Hz, 1H); 5,11 (ddd, *J* = 9,2; 4,4 e 1,7 Hz, 1H); 6,06 (m, 1H); 6,40 (dd, *J* = 16,0 e 1,7 Hz, 1H); 6,73 (dd, *J* = 16,0 e 4,4 Hz, 1H); 6,90 (ddd, *J* = 9,8; 5,5 e 3,0 Hz, 1H).

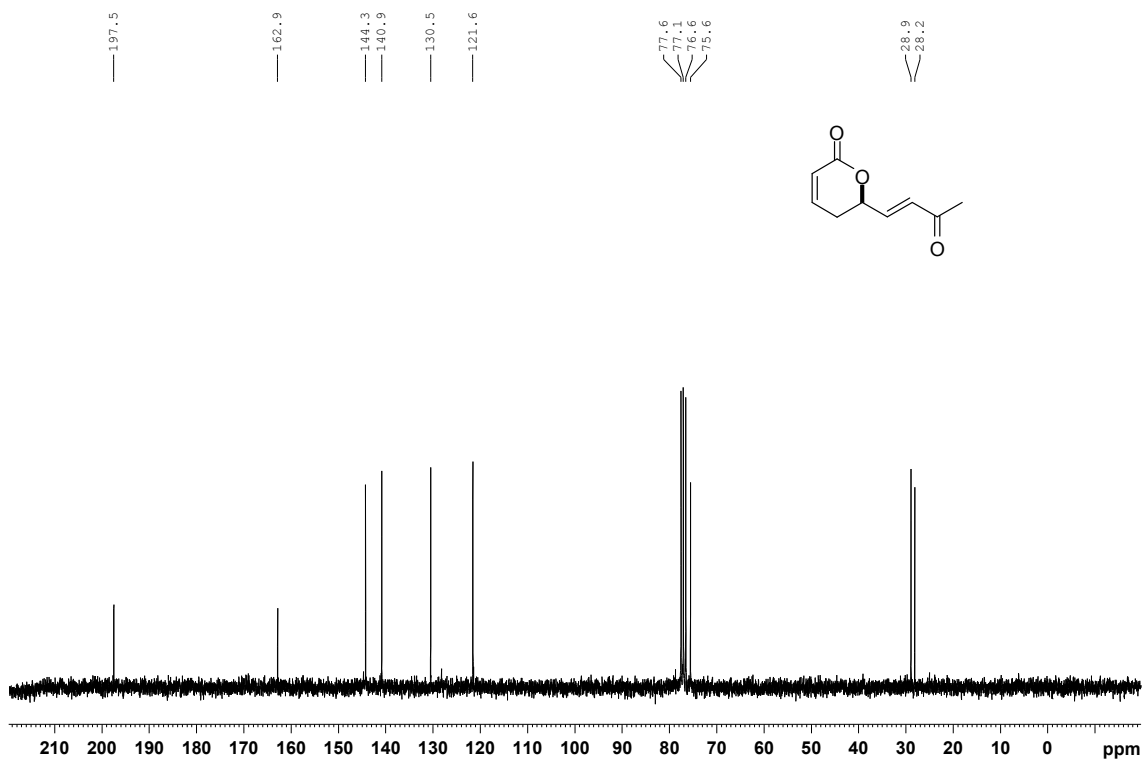
RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) δ (ppm): 28,2; 28,9; 75,6; 121,6; 130,5; 140,9; 144,3; 162,9; 197,5.

EMAR: Calculado para C₉H₁₀O₃: 166,0630; Obtido: [M]⁺ = 166,0605.

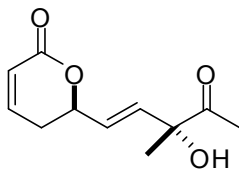
[α]_D²⁵ = + 207 (c 1,0; CHCl₃); {lit. ^{14c}, [α]_D²⁵ = + 201 (c 0,11; CHCl₃)}.



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 16



Espectro de RMN-¹³C (62,5 MHz, CDCl₃): composto 16



**(R)-6-((R,E)-3-hidroxi-3-metil-4-oxopent-1-enil)-5,6-di-hidro-2H-piran-2-ona
(113a)**

A uma solução de 50,0 mg (0,24 mmol) do diol **135a** em 2,0 mL de uma mistura 1:1 de CH₂Cl₂ e DMSO a -5 °C, adicionou-se 0,1 mL (0,71 mmol) de Et₃N. Uma solução de 112,7 mg (0,71 mmol) do complexo SO₃-piridina em 1,0 mL de DMSO foi transferida via cânula para a mistura reacional de forma a manter a temperatura interna em torno de 0 °C. A mistura reacional foi mantida nessa temperatura e sob agitação magnética por 3 horas. Transcorrido esse período, adicionou-se 5,0 mL de éter etílico e efetuou-se a extração com porções contínuas de 5,0 mL de solução aquosa de NaHSO₄ 1M, solução aquosa saturada de NaHCO₃ e solução aquosa saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando hexano/AcOEt 1:1 como sistema eluente.

Rendimento: 44,9 mg (89%)

Aspecto físico: óleo amarelo

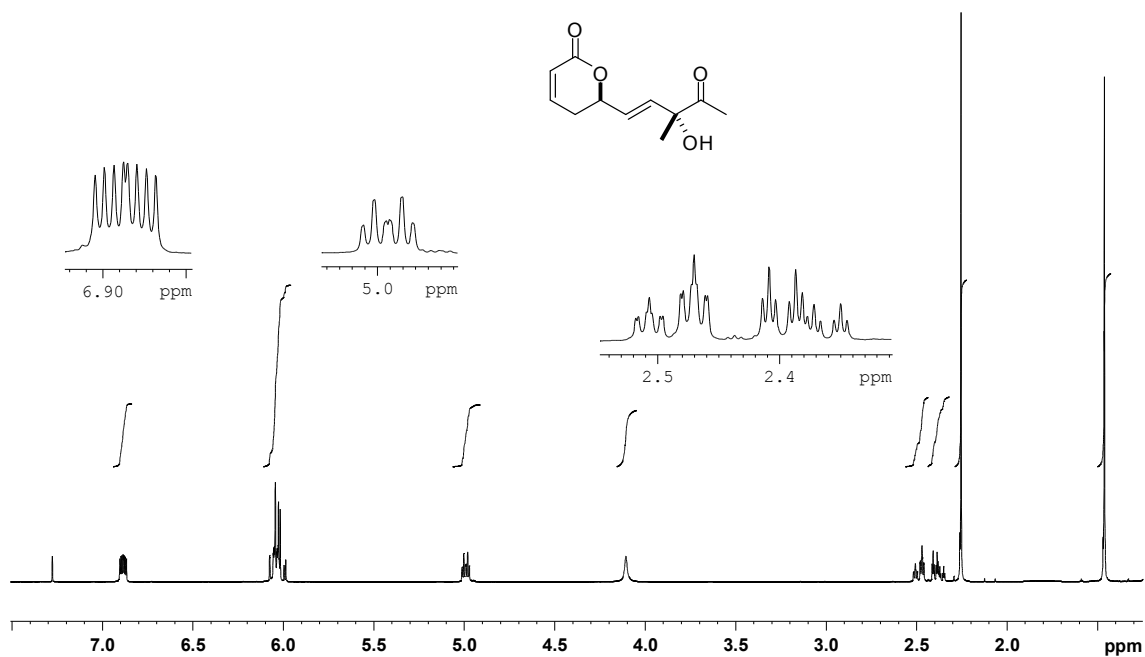
RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz) δ (ppm): 1,46 (s, 3H); 2,25 (s, 3H); 2,38 (ddt, *J* = 18,4; 10,9 e 2,6 Hz, 1H); 2,48 (dtd, *J* = 18,4; 5,5 e 1,0 Hz, 1H); 4,11 (sl, 1H); 4,99 (dt, *J* = 8,9 e 4,2 Hz, 1H); 6,04 (m, 3H); 6,89 (ddd, *J* = 9,8; 5,5; 2,6 Hz, 1H).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz) δ (ppm): 23,9; 25,2; 29,6; 76,5; 78,7; 121,4; 128,2; 133,4; 144,6; 163,6; 208,6.

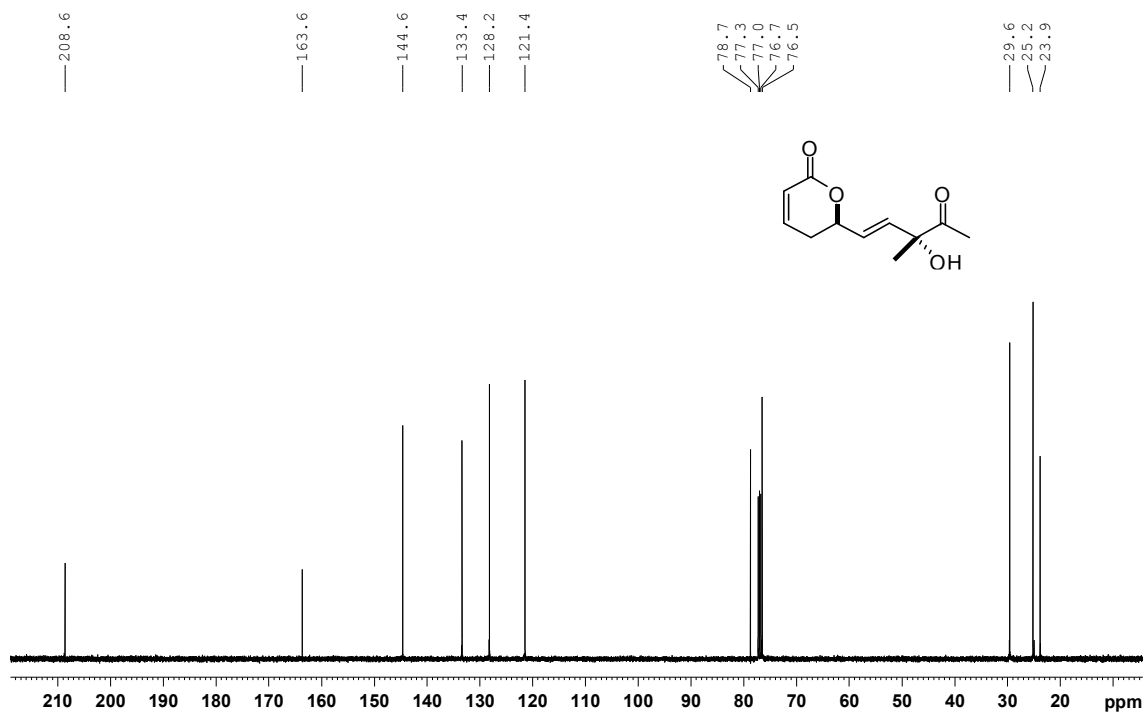
IV (filme, cm⁻¹): 3454; 3020; 2926; 2854; 1713; 1383; 1250; 1217; 908.

EMAR: Calculado para C₁₁H₁₄O₄: 210,0892; Obtido: [M-18] = 192,0787.

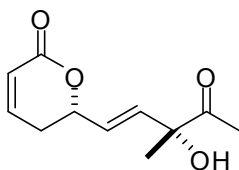
[α]_D²⁵ = -128 (c 8,1; CHCl₃).



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 113a



Espectro de RMN-¹³C (62,5 MHz, CDCl₃): composto 113a



**(S)-6-((R,E)-3-hidroxi-3-metil-4-oxopent-1-enil)-5,6-di-hidro-2H-piran-2-ona
(113b)**

Aspecto físico: óleo amarelo

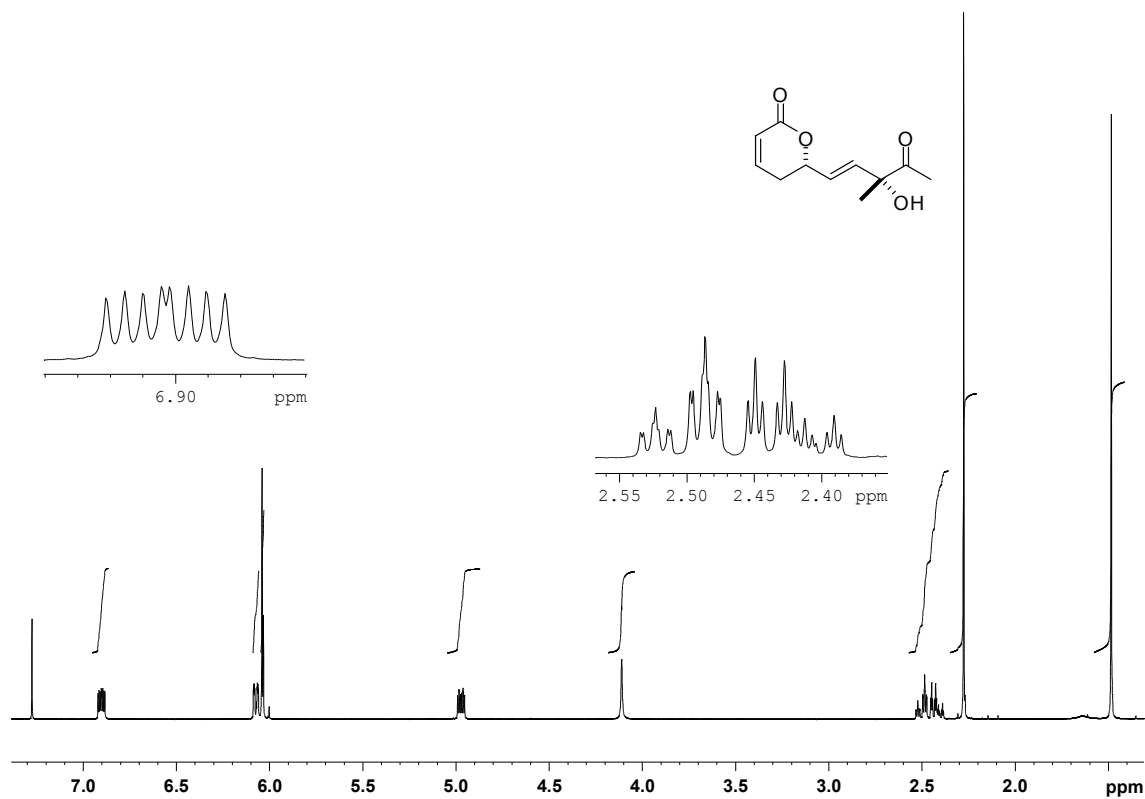
RMN de ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) δ (ppm): 1,48 (s, 3H); 2,27 (m, 3H); 2,41 (ddt, J = 18,4; 10,8 e 2,6 Hz, 1H); 2,50 (dtd, J = 18,4; 4,6 e 1,0 Hz, 1H); 4,11 (sl, 1H); 4,97 (ddd, J = 10,8; 4,4 e 3,5 Hz, 1H); 6,04 (m, 2H); 6,07 (ddd, J = 9,8; 2,5 e 1,1 Hz, 1H); 6,90 (ddd, J = 9,8; 5,7; 2,9 Hz, 1H).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 62,5 MHz) δ (ppm): 24,1; 25,3; 30,0; 76,9; 79,0; 121,8; 128,5; 133,7; 144,9; 163,9; 209,0.

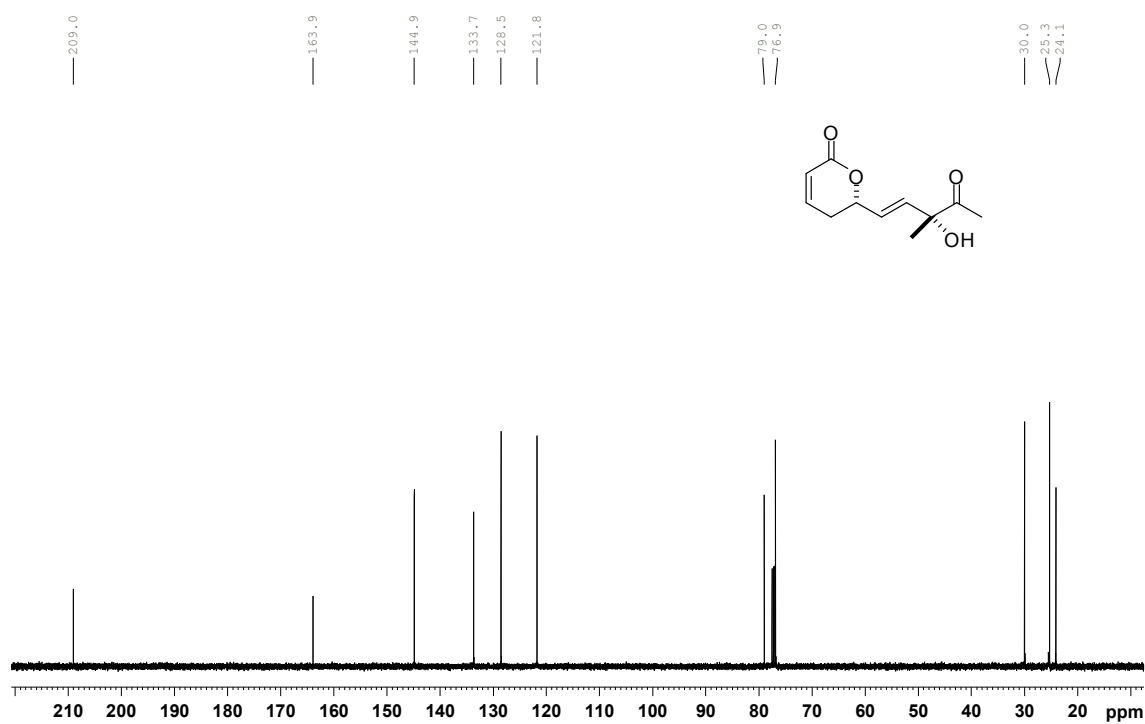
IV (filme, cm^{-1}): 3454; 3020; 2954; 2926; 2854; 1713; 1382; 1250; 1217; 1058; 908.

EMAR: Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_4$: 210,0892; Obtido: $[\text{M}-18] = 192,0787$.

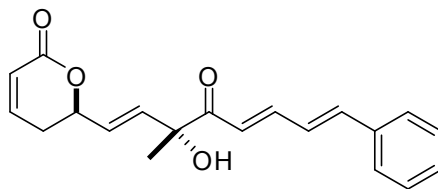
$[\alpha]_D^{25} = -3,0$ (c 0,8; CHCl_3).



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 113b



Espectro de RMN-¹³C (62,5 MHz, CDCl₃): composto 113b



(R)-6-((R,1E,5E,7E)-3-hidroxi-3-metil-4-oxo-8-fenilocta-1,5,7-trienil)-5,6-di-hidro-2H-piran-2-one (105a)

Em um balão de 5,0 mL, previamente flambado e sob fluxo positivo de N₂, preparou-se uma solução de 42,0 µL (0,30 mmol) de DIPA em 1,2 mL de THF seco. A solução foi resfriada a 0 °C com auxílio de banho de gelo e em seguida, adicionou-se, gota a gota, 0,16 mL (0,30 mmol) de uma solução 1,57 M de *n*-BuLi em hexano. A reação permaneceu sob agitação por 15 minutos e a temperatura foi reduzida para -78 °C e adicionou-se 30,0 mg (0,14 mmol) da metilcetona **113a** dissolvida em 1,0 mL de THF seco. Transcorrido 15 minutos adicionou-se, também gota a gota, 40 µL (0,21 mmol) de trans-cinamaldeído. A reação foi posta a 0 °C sob agitação por 24 h. Adicionou-se solução saturada de NH₄Cl e, em seguida, as fases foram separadas. A fase aquosa foi extraída com AcOEt (3 x 5,0 mL) e depois reunidas, secas com MgSO₄ anidro, filtrada e concentrada. O produto foi purificado por cromatografia *flash* utilizando hexano/AcOEt 1:1.

Rendimento: 31,3 mg (67%)

Aspecto físico: óleo amarelo

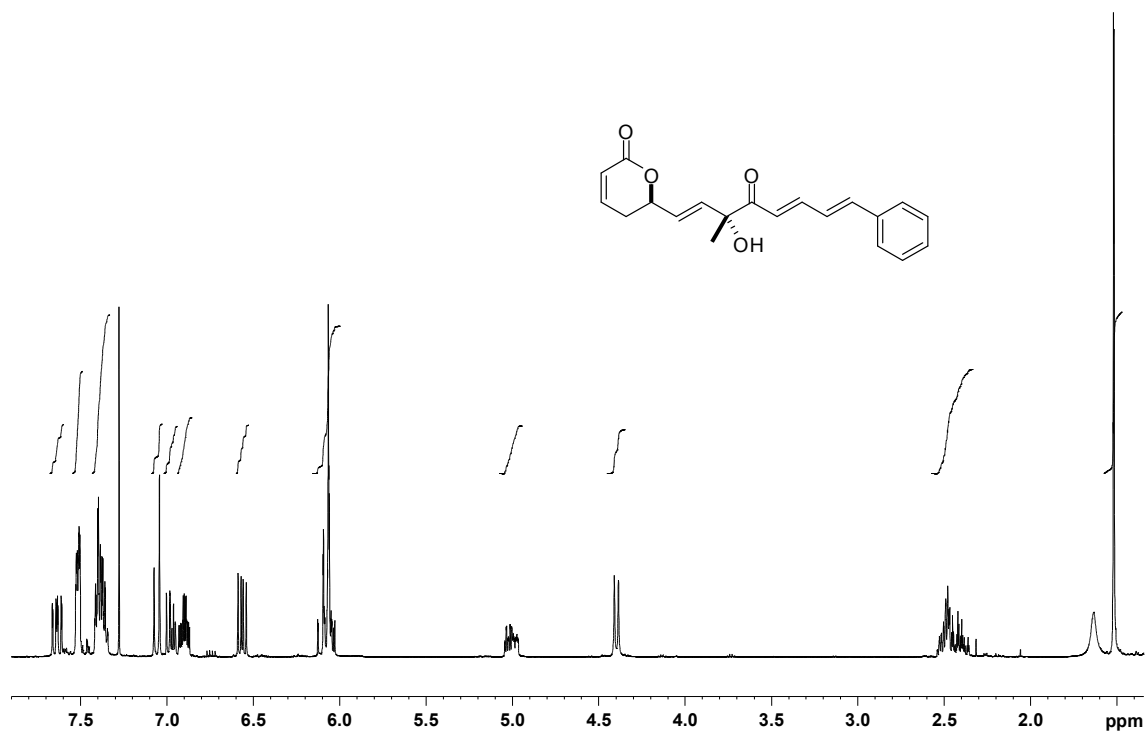
RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) δ (ppm): 1,52 (s, 3H); 2,43 (m, 2H); 4,40 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H); 5,00 (m, 1H); 6,06 (m, 3H); 6,57 (dd, *J* = 14,9 e 8,9 Hz, 1H); 6,90 (m, 1H); 7,01 (m, 1H); 7,06 (d, *J* = 15,1 Hz, 1H); 7,27 – 7,53 (m, 5H); 7,64 (dd, *J* = 15,1 e 1,8 Hz, 1H).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) δ (ppm): 25,3; 30,1; 77,9; 91,3; 123,0; 125,2; 127,9; 128,2; 128,3; 129,3; 130,0; 132,0; 135,6; 142,4; 143,1; 144,9; 167,5; 200,2.

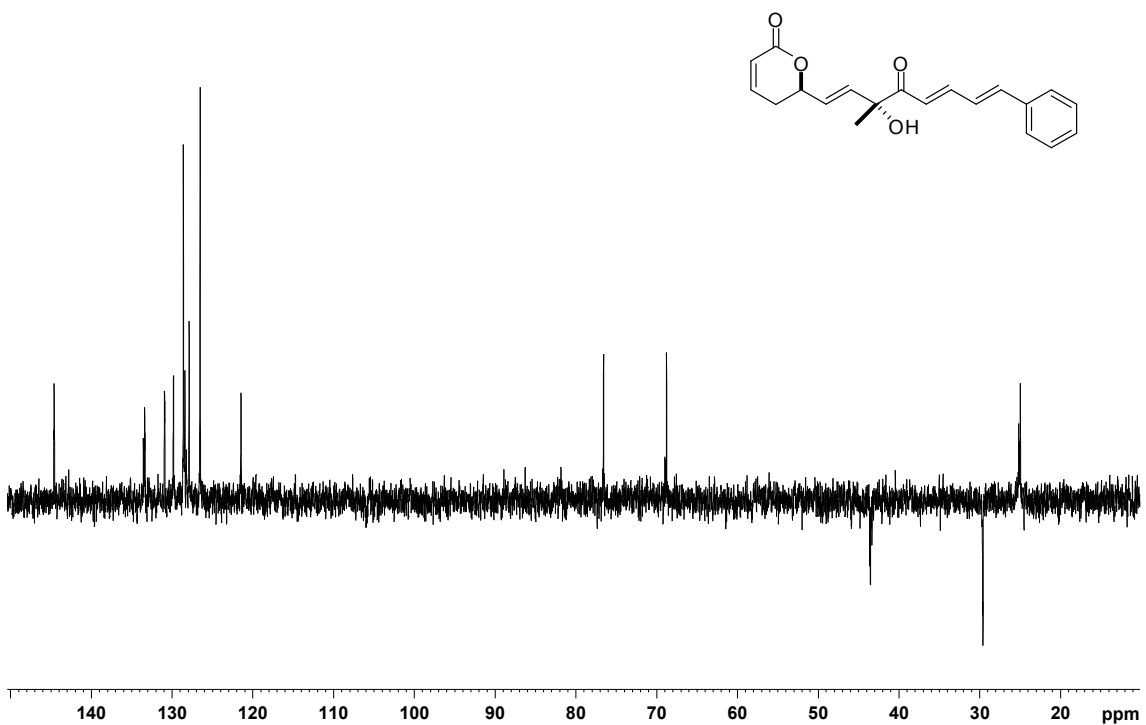
IV (filme, cm⁻¹): 3439; 3062; 2983; 2926; 2855; 1719; 1599; 1584; 1382; 1285; 1246; 1056; 973.

EMAR: Calculado para C₂₀H₂₀O₄: 324,1362; Obtido: [M-18] = 306,1360.

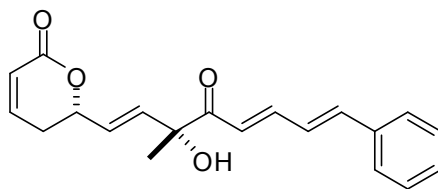
[α]_D²⁵ = + 74,0 (c 1,0; CHCl₃).



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 105^a



Espectro de DEPT-135 (62,5 MHz, CDCl₃): composto 105a



(S)-6-((R,1E,5E,7E)-3-hidroxi-3-metil-4-oxo-8-fenilocta-1,5,7-trienil)-5,6-dihidro-2H-piran-2-ona (105b)

Aspecto físico: óleo amarelo

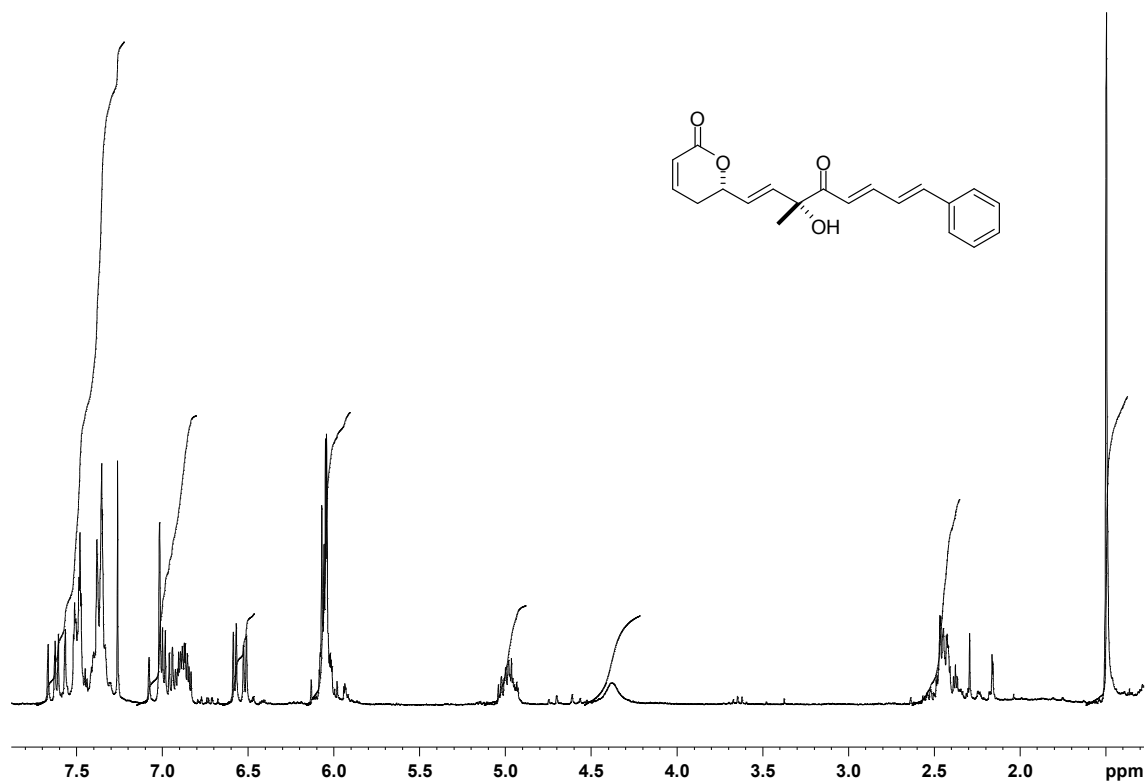
RMN de ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) δ (ppm): 1,50 (s, 3H); 2,43 (m, 2H); 4,39 (sl, 1H); 4,97 (m, 1H); 6,05 (m, 3H); 6,54 (dd, $J = 14,9$ e $4,4$ Hz, 1H); 6,93 (m, 3H); 7,47 (m, 5H).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 62,5 MHz) δ (ppm): 25,3; 30,1; 77,9; 91,3; 123,0; 125,2; 127,9; 128,2; 128,3; 129,3; 130,0; 132,0; 135,6; 142,4; 143,1; 144,9; 167,5; 200,2.

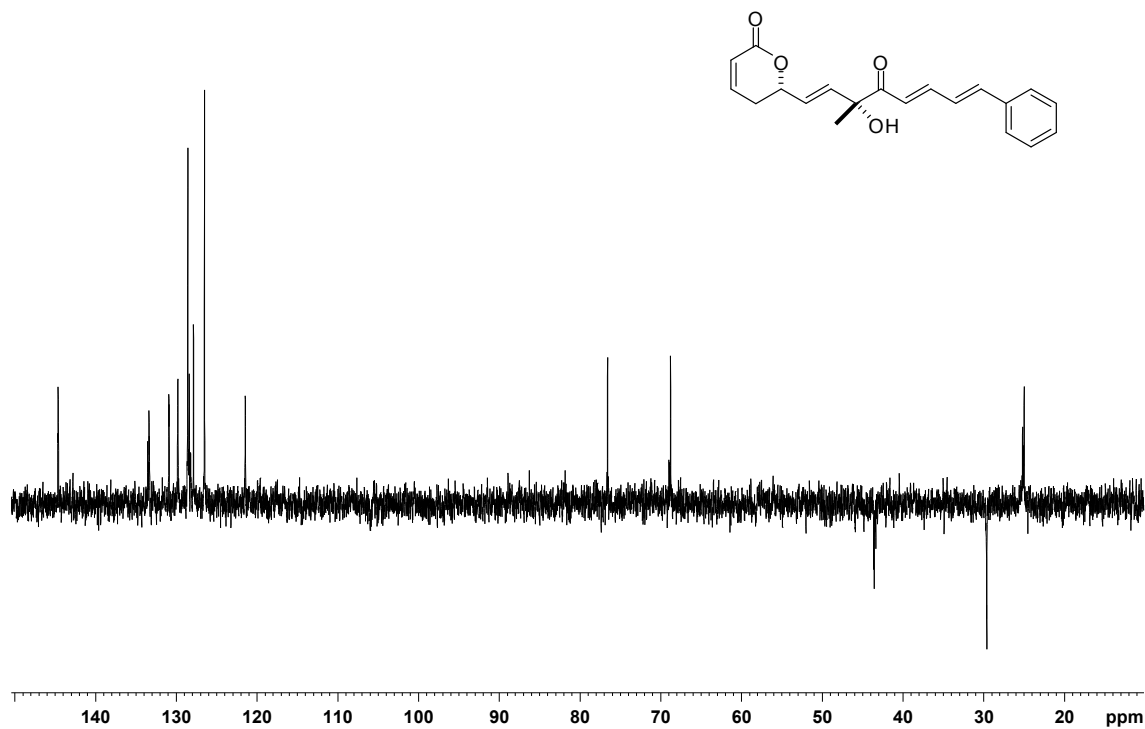
IV (filme, cm^{-1}): 3439; 3062; 2983; 2926; 2855; 1719; 1599; 1584; 1382; 1285; 1246; 1056; 973.

EMAR: Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_4$: 324,1362; Obtido: $[\text{M}-18] = 306,1360$.

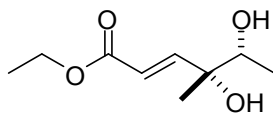
$[\alpha]_D^{25} = +14,0$ (c 1,0; CHCl_3).



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 105b



Espectro de DEPT-135 (62,5 MHz, CDCl₃): composto 105b



(4*R*,5*R*,*E*)-4,5-di-hidroxi-4-metil-hex-2-enoato de etila (139)

Em um balão de 50,0 mL adicionou-se 3,46 g (10,5 mmol) de $K_3Fe(CN)_6$, 1,45 g (10,5 mmol) de K_2CO_3 , 272,7 mg (0,35 mmol) de (DHQD)₂-PHAL e em seguida, dissolveu-se a mistura sólida em 35,0 mL de *t*-BuOH:H₂O (1:1). A mistura permaneceu sob agitação vigorosa por 15 minutos até dissolução total dos sais, em seguida, resfriou-se a solução a 0 °C e acrescentou-se 8,9 mg (0,04 mmol) de OsO_4 e 333,1 mg (3,5 mmol) de $MeSO_2NH_2$. Transcorrido 5 minutos de agitação, 540,0 mg (3,5 mmol) da olefina **130** dissolvida em 2,0 mL da mistura 1:1 de *t*-BuOH:H₂O foi adicionado a mistura reacional. Após 8 h de reação adicionou-se 448,0 mg de Na_2SO_3 sólido e a reação permaneceu sob agitação por mais 45 minutos. Em seguida, adicionou-se 40,0 mL de AcOEt; a mistura heterogênea foi agitada vigorosamente a temperatura ambiente por 15 minutos e as fases foram separadas. A fase aquosa foi extraída com AcOEt (3 x 20,0 mL) e as fases orgânicas combinadas foram secas com $MgSO_4$ anidro, filtradas e concentradas. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica *flash*, utilizando hexano/AcOEt (1:1) como eluente.

Rendimento: 368,9 mg (56%)

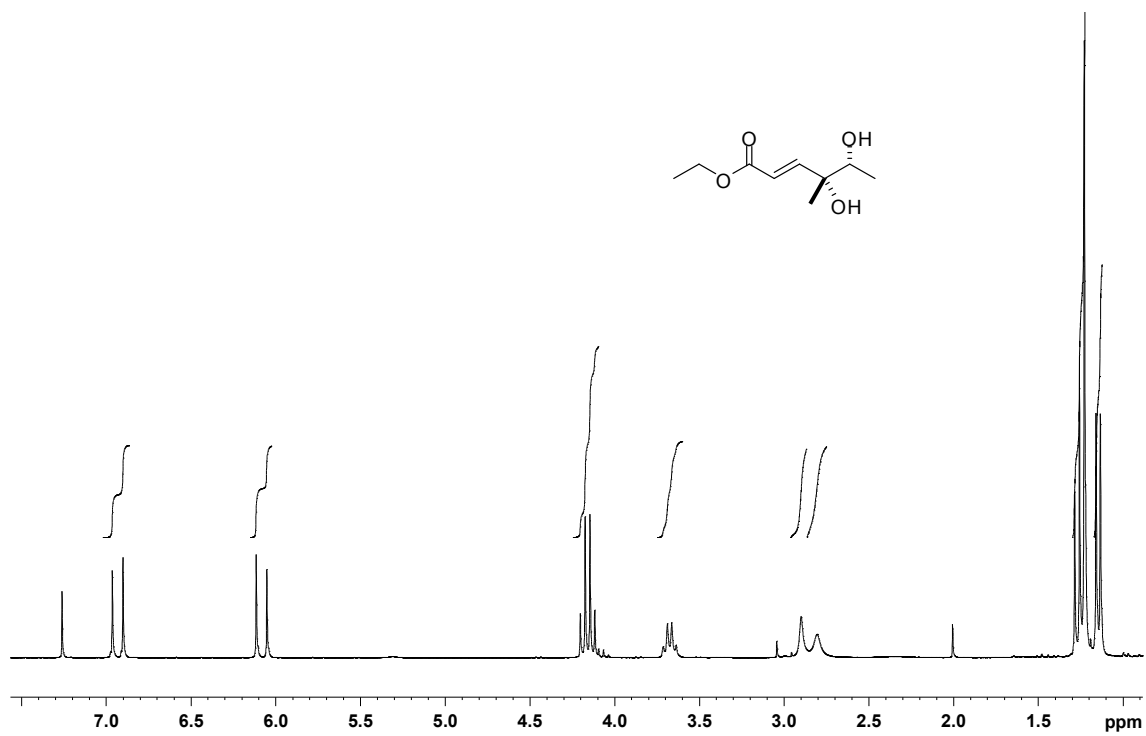
Aspecto físico: óleo amarelo

RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) δ (ppm): 1,15 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H); 1,23 (s, 3H); 1,26 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H); 2,81 (sl, 1H); 2,90 (sl, 1H); 3,67 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H); 4,16 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H); 6,08 (d, *J* = 15,7 Hz, 1H); 6,93 (d, *J* = 15,7 Hz, 1H).

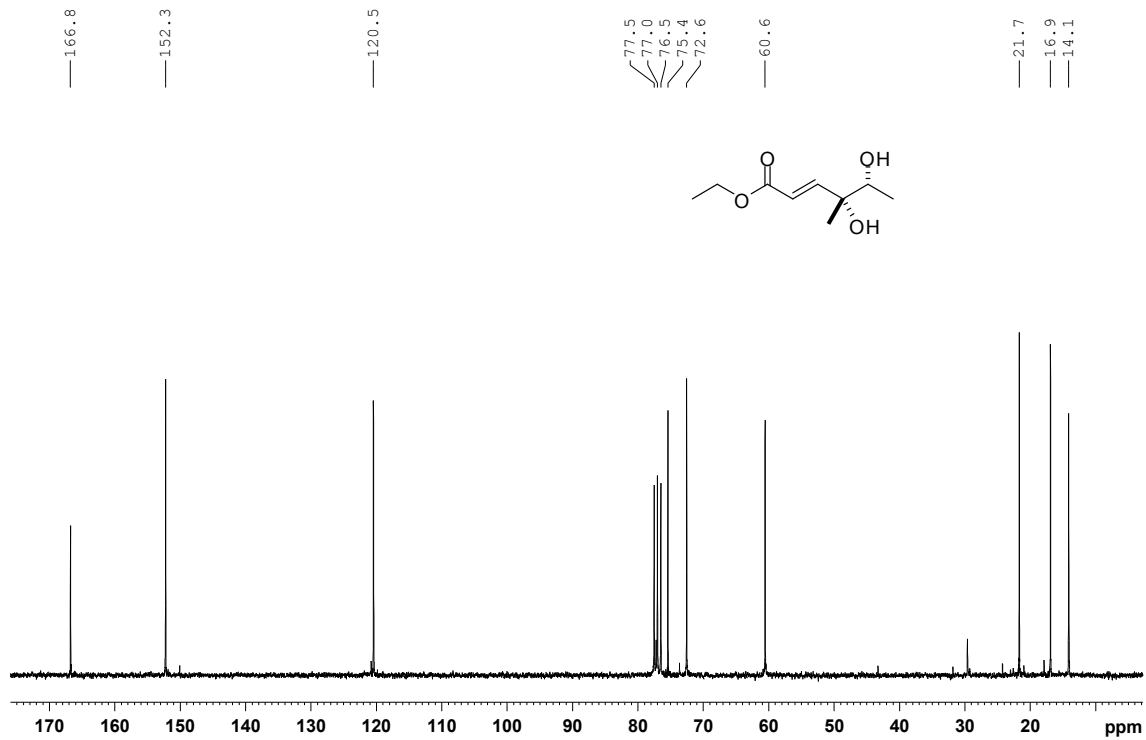
RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) δ (ppm): 14,1; 16,9; 21,7; 60,6; 72,6; 75,4; 120,5; 152,3; 166,8.

IV (filme, cm⁻¹): 3439; 3062; 2983; 2926; 2855; 1719; 1599; 1584; 1382; 1285; 1246; 1056; 973.

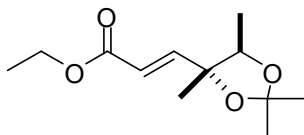
[α]_D²⁵ = - 8,0 (c 1,0; CH₂Cl₂); {lit.¹⁰⁷, [α]_D²⁵ = - 6,3 (c 0,98; CH₂Cl₂)}.



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 139



Espectro de RMN-¹³C (62,5 MHz, CDCl₃): composto 139



(E)-3-((4R,5R)-2,2,4,5-tetrametil-1,3-dioxolan-4-il)acrilato de etila (140)

A uma solução de 242,0 mg (1,33 mmol) do diol **139** em 5,0 mL de CH₂Cl₂, sob agitação a temperatura ambiente, foi adicionado 0,3 mL (2,00 mmol) de 2,2-dimetoxipropano e 6,0 mg de CSA. A reação permaneceu sob agitação por 1h e em seguida, adicionou-se 8,0 mL de solução aquosa saturada de NaHCO₃. As fases foram separadas e a fase aquosa extraída com éter etílico (3 x 10,0 mL). A fase orgânica reunida foi lavada com salmoura, seca com MgSO₄ anidro e concentrada. A purificação do composto foi feita através de cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando hexano/AcOEt 9:1 como sistema eluente.

Rendimento: 273,3 mg (90%)

Aspecto físico: óleo amarelo

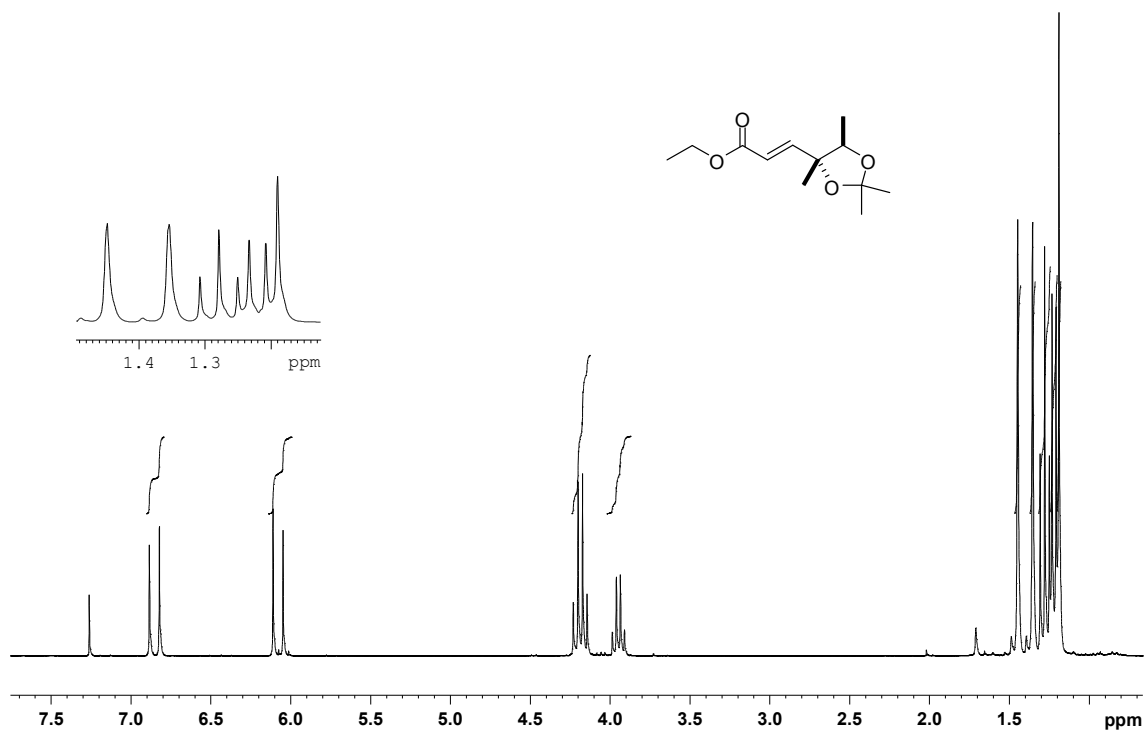
RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) δ (ppm): 1,19 (s, 3H); 1,22 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H); 1,28 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H); 1,35 (s, 3H); 1,45 (s, 3H); 3,95 (q, *J* = 6,3 Hz, 1H); 4,19 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H); 6,08 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H); 6,84 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) δ (ppm): 13,8; 14,2; 20,5; 26,3; 28,3; 60,5; 76,5; 81,9; 107,8; 120,3; 149,4; 166,4.

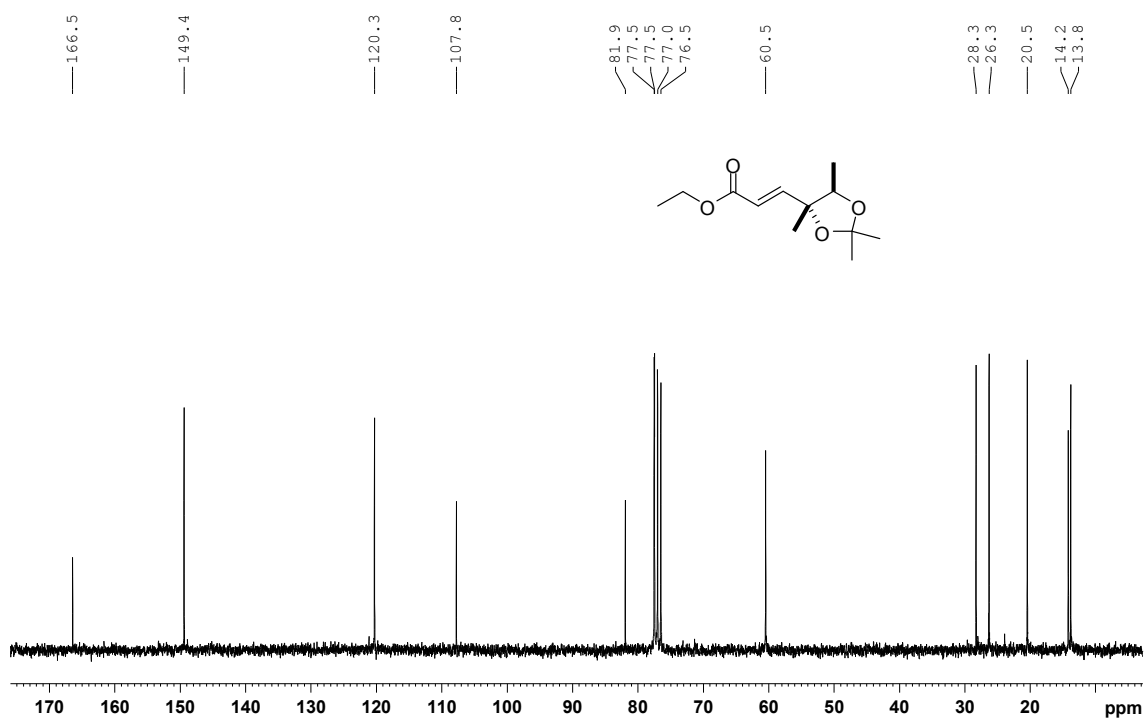
IV (filme, cm⁻¹): 2986; 2938; 2874; 1722; 1659; 1587; 1455; 1371; 1301; 1105.

EMAR: Calculado para C₁₁H₁₇O₄: 213,1127; Obtido: [M-15] = 213,1158.

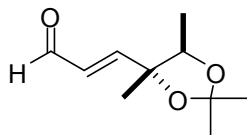
[α]_D²⁵ = - 43,0 (c 1,5; CHCl₃).



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 140



Espectro de RMN-¹³C (62,5 MHz, CDCl₃): composto 140



(E)-3-((4R,5R)-2,2,4,5-tetrametil-1,3-dioxolan-4-il)acrilaldeído (141)

Em um balão de 50,0 mL seco e com uma barrinha de agitação magnética pesou-se 286,0 mg (1,25 mmol) do éster **140**, em seguida o balão foi fechado com um septo de borracha e deixou-se passar fluxo de N₂. O éster foi então diluído em 12,0 mL de CH₂Cl₂ e a solução foi resfriada a -78 °C. À reação foram adicionados 0,6 mL (3,13 mmol) de DIBAL-H via seringa. A reação permaneceu sob agitação nessa temperatura por 30 minutos, quando se observou por CCD o desaparecimento do material de partida. A solução foi aquecida a 0 °C e adicionou-se 5,0 mL de AcOEt cuidadosamente, em seguida, adicionou-se 10,0 mL de solução aquosa de HCl 1M. A emulsão permaneceu sob forte agitação até ser desfeita completamente (≈ 1,0 h). As fases foram separadas e a aquosa extraída com CH₂Cl₂ (3 x 10,0 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com MgSO₄ anidro, filtradas e concentradas sob rotaevaporador com aquecimento do banho em torno de 40 °C. O concentrado foi utilizado na etapa seguinte sem prévia purificação. O bruto reacional foi redissolvido em 15,0 mL de CH₂Cl₂ e mantido sob agitação a temperatura ambiente e sob fluxo de N₂. À mistura reacional foi adicionado 660,0 mg (1,80 mmol) de BAIB e 154,0 mg (0,98 mmol) de TEMPO. A reação permaneceu sob agitação por duas horas e em seguida, o solvente foi removido em rotaevaporador e o produto foi purificado por meio de cromatografia em coluna de sílica *flash*, utilizando hexano/ AcOEt 7:3 como sistema eluente.

Rendimento: 209,6 mg (91%)

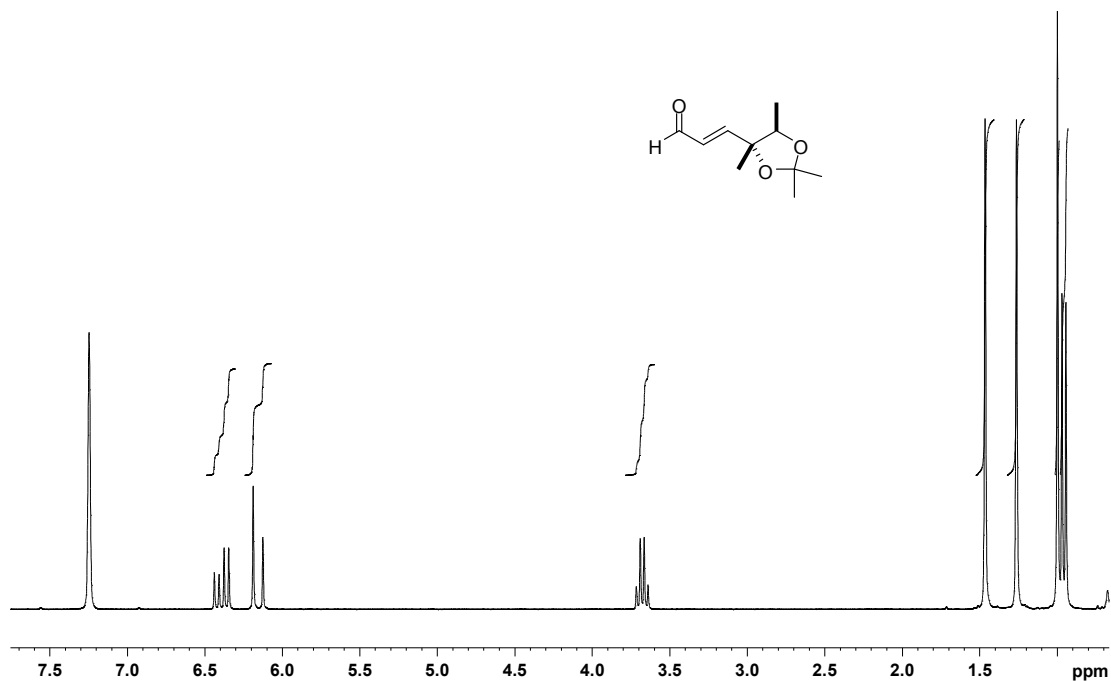
Aspecto físico: óleo amarelo $[\alpha]_D^{25} = -46,0$ (c 1,3; CHCl₃).

RMN de ¹H (C₆D₆, 250 MHz) δ (ppm): 0,96 (d, J = 6,3 Hz, 3H); 1,00 (s, 3H); 1,26 (s, 3H); 1,46 (s, 3H); 3,68 (q, J = 6,3 Hz, 1H); 6,16 (d, J = 15,7 Hz, 1H); 6,39 (dd, J = 15,7 e 7,6 Hz, 1H); 9,41 (d, J = 7,6 Hz, 1H).

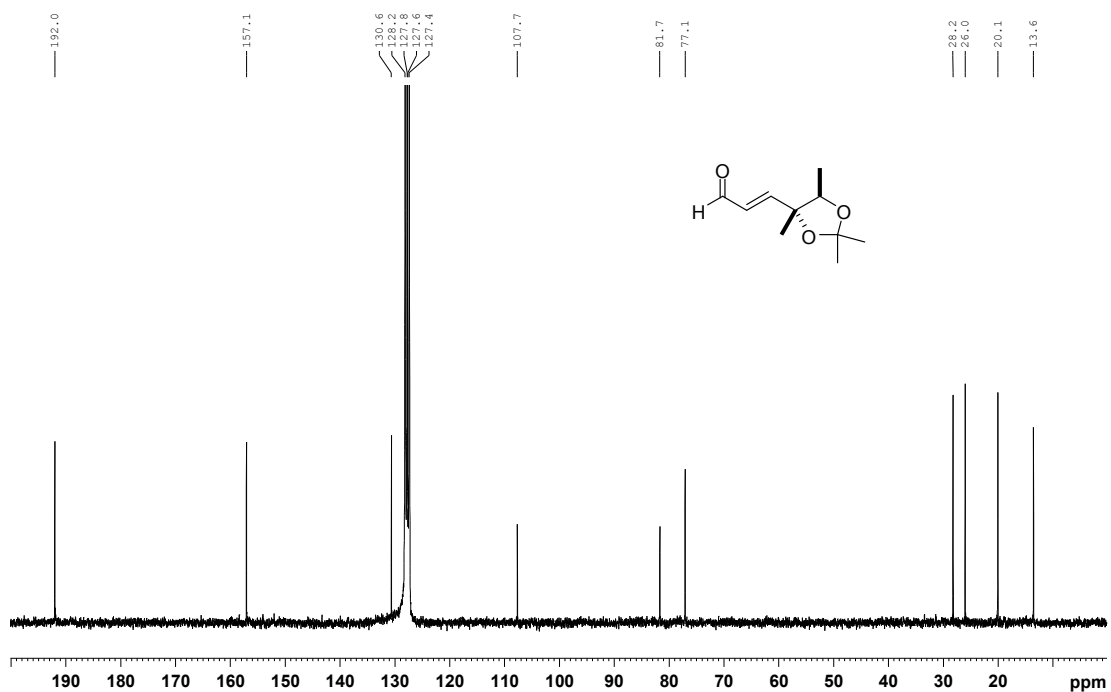
RMN de ^{13}C (C_6D_6 , 62,5 MHz) δ (ppm): 13,6; 20,1; 26,0; 28,2; 77,1; 81,7; 107,7; 130,6; 157,0; 192,0.

IV (filme, cm^{-1}): 2987; 2932; 2733; 1695; 1375; 1218; 1177; 1103; 1009.

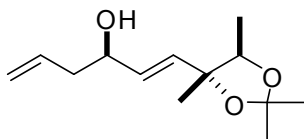
EMAR: Calculado para $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{O}_3$: 169,0865; Obtido: $[\text{M}-15] = 169,0862$.



Espectro de RMN- ^1H (250 MHz, CDCl_3): composto 141



Espectro de RMN- ^{13}C (62,5 MHz, CDCl_3): composto 141



(*R,E*)-1-((4*R*,5*R*)-2,2,4,5-tetrametil-1,3-dioxolan-4-il)hexa-1,5-dien-3-ol (142)

A uma solução de 23,3 mg (0,08 mmol) de (*R*)-BINOL em 1,0 mL CH₂Cl₂ sob agitação, adicionou-se peneira molecular 4 Å (pulverizada e ativada em forno a 120°C por vários dias). À suspensão resultante, foram adicionados 24,0 µL (0,08 mmol) de Ti(O^{*i*}Pr)₄ à temperatura ambiente. A suspensão laranja-avermelhada foi aquecida até a temperatura de refluxo e permaneceu nessa condição por 1 h, quando a cor da reação tornou-se marrom-avermelhada. Em seguida, resfriou-se o sistema a temperatura ambiente e uma solução de 150 mg (0,81 mmol) do aldeído **141** em 1,0 mL de CH₂Cl₂ foi adicionada gota a gota. Após 5 min de agitação, a mistura foi resfriada a -78°C e 0,38 mL (1,22 mmol) de alil-tributylestanana foram adicionados gota a gota e vagarosamente. A reação foi mantida sob agitação por 60 h a -20°C.

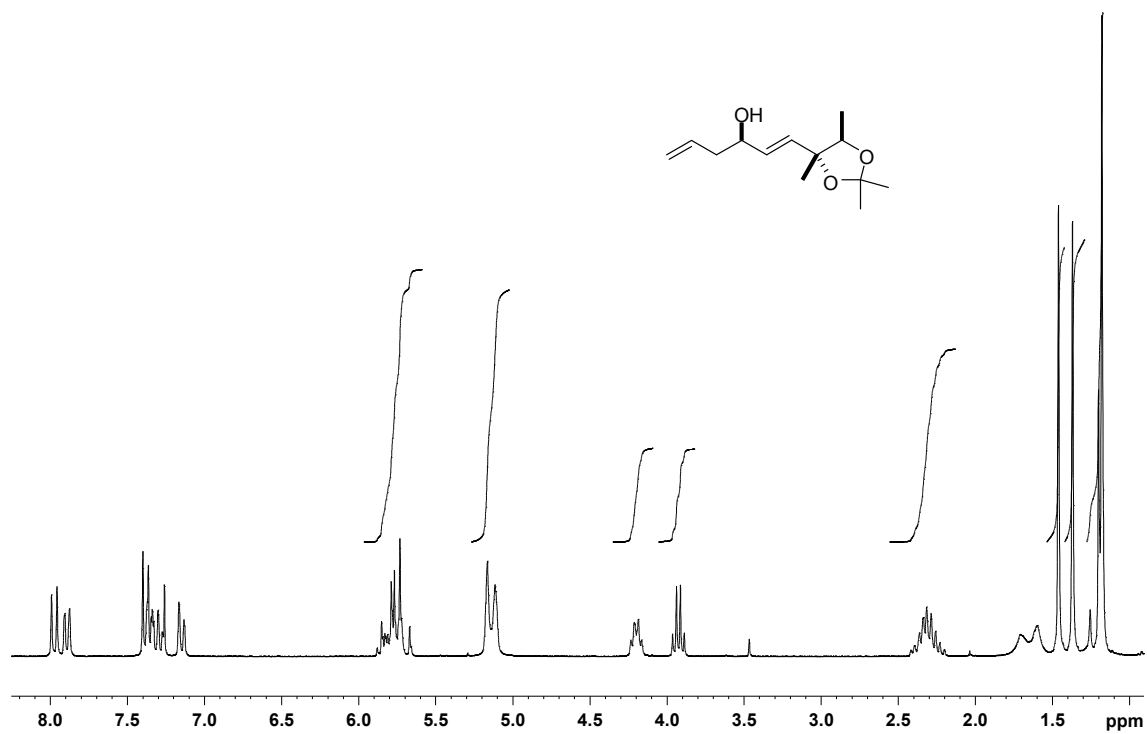
Após esse período, solução saturada de NaHCO₃ foi adicionada e as fases foram separadas. A fase aquosa foi extraída com CH₂Cl₂ e as fases orgânicas obtidas foram combinadas, secas com MgSO₄, filtradas e concentradas à pressão reduzida. O álcool homoalílico obtido foi purificado em coluna cromatográfica de sílica *flash* utilizando hexano/acetato de etila 7:3 como fase móvel.

Aspecto físico: óleo amarelo

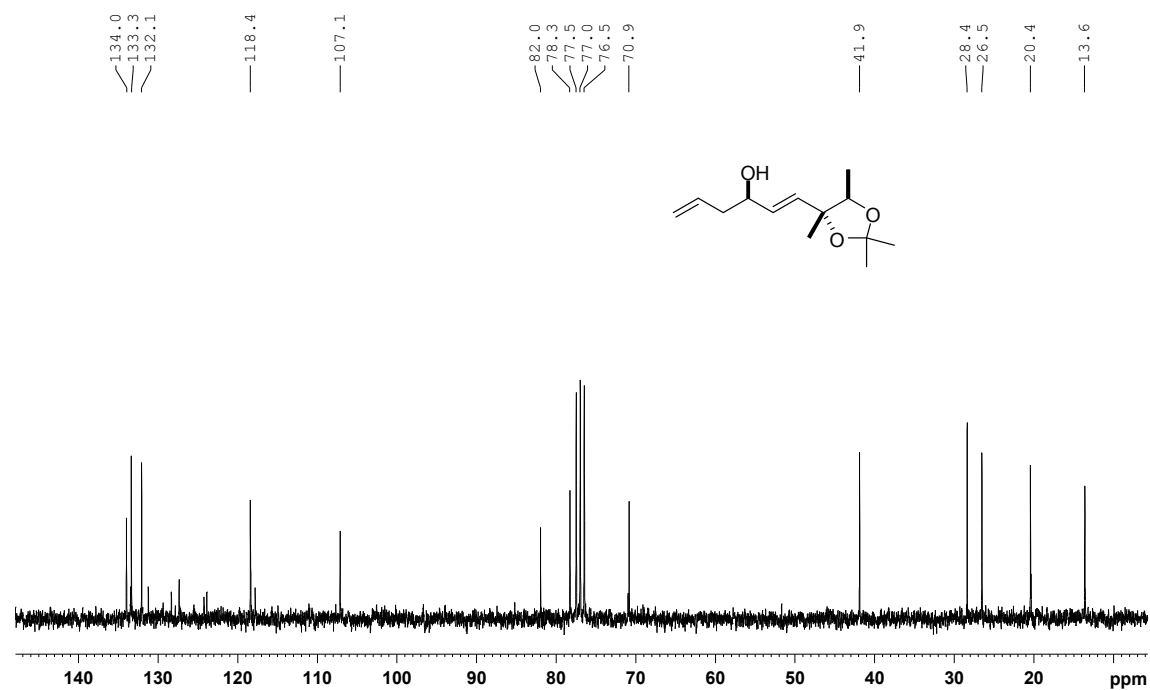
RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) δ (ppm): 1,81 (s, 3H); 1,29 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H); 1,37 (s, 3H); 1,46 (s, 3H); 1,71, (sl, 1H); 2,32, (m, 2H); 3,92 (q, *J* = 6,3 Hz, 1H); 4,20 (q, *J* = 5,1 Hz, 1H); 5,12 (m, 2H); 5,79 (m, 3H).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) δ (ppm): 13,6; 20,4; 26,5; 28,4; 41,9; 70,9; 78,3; 82,0; 107,1; 118,4; 132,1; 133,3; 134,0.

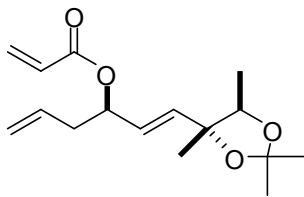
EMAR: Calculado para C₁₂H₁₉O₃: 211,1334; Obtido: [M-15] = 211,1355.



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 142



Espectro de RMN-¹³C (62,5 MHz, CDCl₃): composto 142



(*R,E*)-1-((4*R*,5*R*)-2,2,4,5-tetrametil-1,3-dioxolan-4-il)acrilato de hexa-1,5-dien-3-ila (143)

A uma solução de 97,0 mg (0,429 mmol) do álcool **142** em 2,5 mL de CH₂Cl₂ e a 0 °C, adicionou-se 0,1 mL (0,858 mmol) de Et₃N, seguida da adição de 0,1 mL (0,644 mmol) de cloreto de acrilóila. A reação foi posta a temperatura ambiente e permaneceu sob agitação por 1 hora. Após esse período, o solvente foi removido em rotaevaporador e o produto foi purificado por cromatografia líquida em coluna de sílica gel, utilizando hexano/AcOEt 9:1 como sistema eluente.

Rendimento: 81,8 mg (75%)

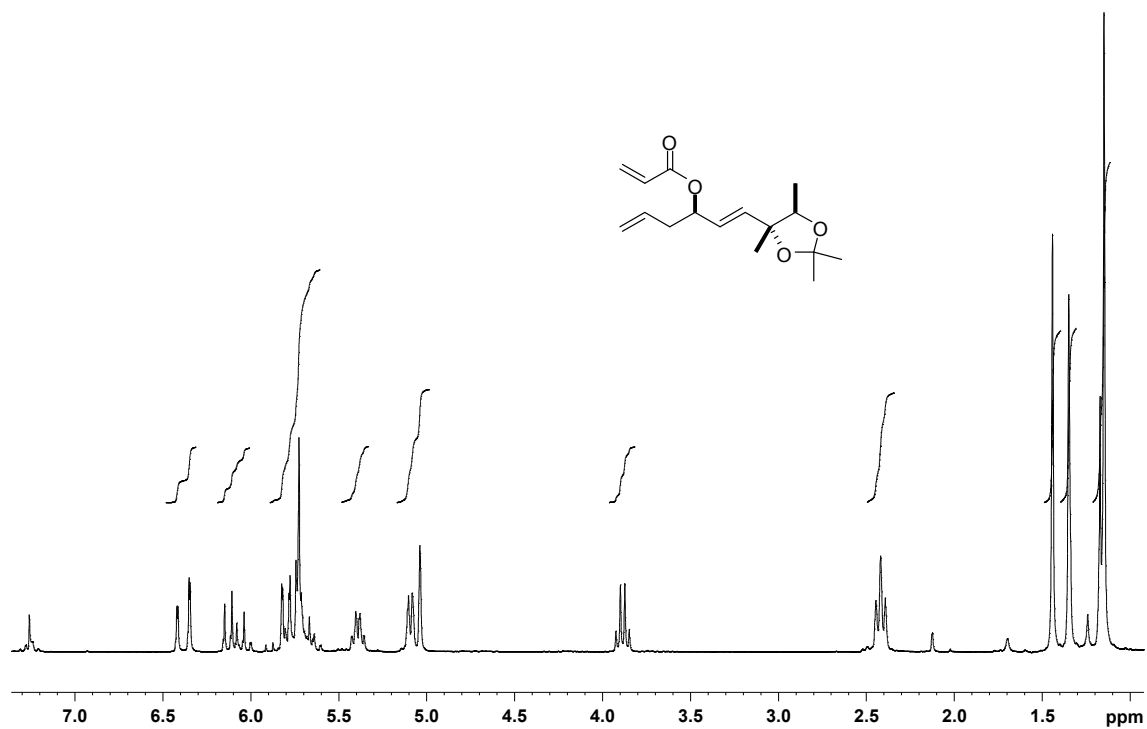
Aspecto físico: óleo amarelo

RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) δ (ppm): 1,15 (s, 3H); 1,16 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H); 1,34 (s, 3H); 1,44 (s, 3H); 2,42 (t, *J* = 6,7 Hz, 2H); 3,88 (q, *J* = 6,3 Hz, 2H); 5,07 (m, 2H); 5,38 (m, 1H); 5,73 (m, 3H); 6,11 (dd, *J* = 17,3 e 10,3 Hz, 1H); 6,38 (dd, *J* = 17,3 e 1,6 Hz, 1H).

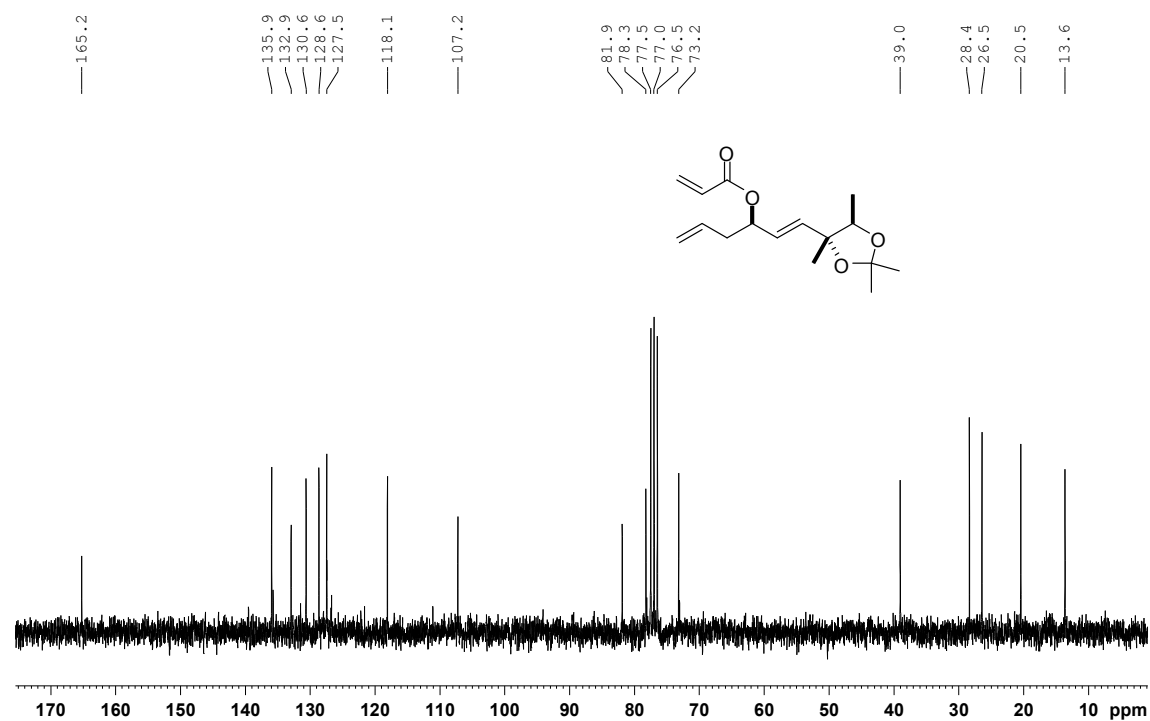
RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) δ (ppm): 13,6; 20,5; 26,5; 28,4; 39,0; 73,2; 78,3; 81,9; 107,2; 118,1; 127,5; 128,6; 130,6; 132,9; 135,9; 165,2.

EMAR: Calculado para C₁₅H₂₁O₄: 265,1440; Obtido: [M-15] = 265,1467.

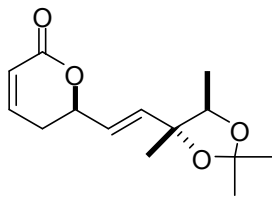
[α]_D²⁵ = - 17,0 (c 1,3; CHCl₃).



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 143



Espectro de RMN-¹³C (62,5 MHz, CDCl₃): composto 143



(R)-6-((E)-2-((4R,5R)-2,2,4,5-tetrametil-1,3-dioxolan-4-il)vinil)-5,6-di-hidro-2H-piran-2-ona (144)

A uma solução 48,0 mg (0,171 mmol) do éster **143** em 17,1 mL de CH₂Cl₂ à temperatura de 55-60 °C adicionou-se 14,0 mg (0,02 mmol) do catalisador de Grubbs de 1ª geração dissolvidos em 5,0 mL de CH₂Cl₂. A mistura reacional ficou sob aquecimento por 8 horas. Após este período acrescentou-se 2,0 mL de DMSO e a reação permaneceu sob agitação *overnight*. Em seguida, o solvente foi evaporado e o produto purificado por cromatografia em coluna de sílica gel e hexano/AcOEt 1:1 como fase eluente.

Rendimento: 34,5 mg (80%)

Aspecto físico: óleo amarelo

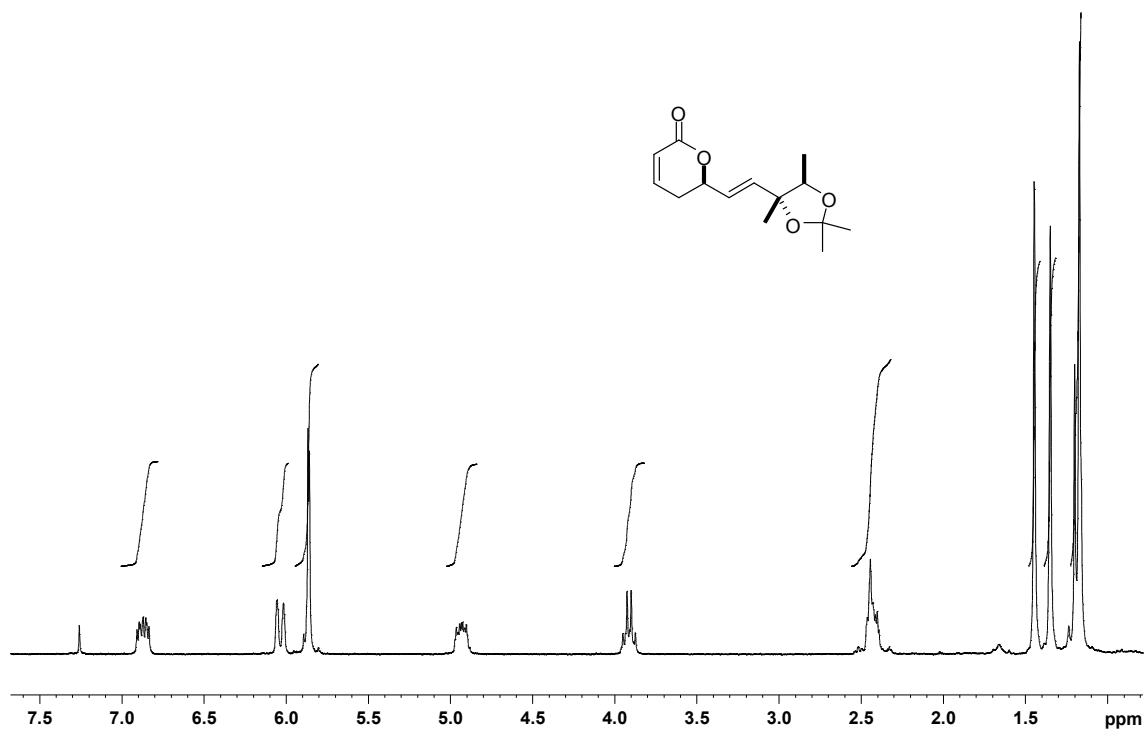
RMN de ¹H (CDCl₃, 250 MHz) δ (ppm): 1,17 (s, 3H); 1,18 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H); 1,35 (s, 3H); 1,45 (s, 3H); 2,42 (m, 2H); 3,91 (q, *J* = 6,3 Hz, 1H); 4,93 (m, 1H); 5,87 (m, 2H); 6,03 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H); 6,87 (m, 1H).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) δ (ppm): 13,6; 20,4; 26,5; 28,4; 29,8; 77,0; 78,2; 81,8; 107,4; 121,5; 126,5; 136,2; 144,6; 163,8.

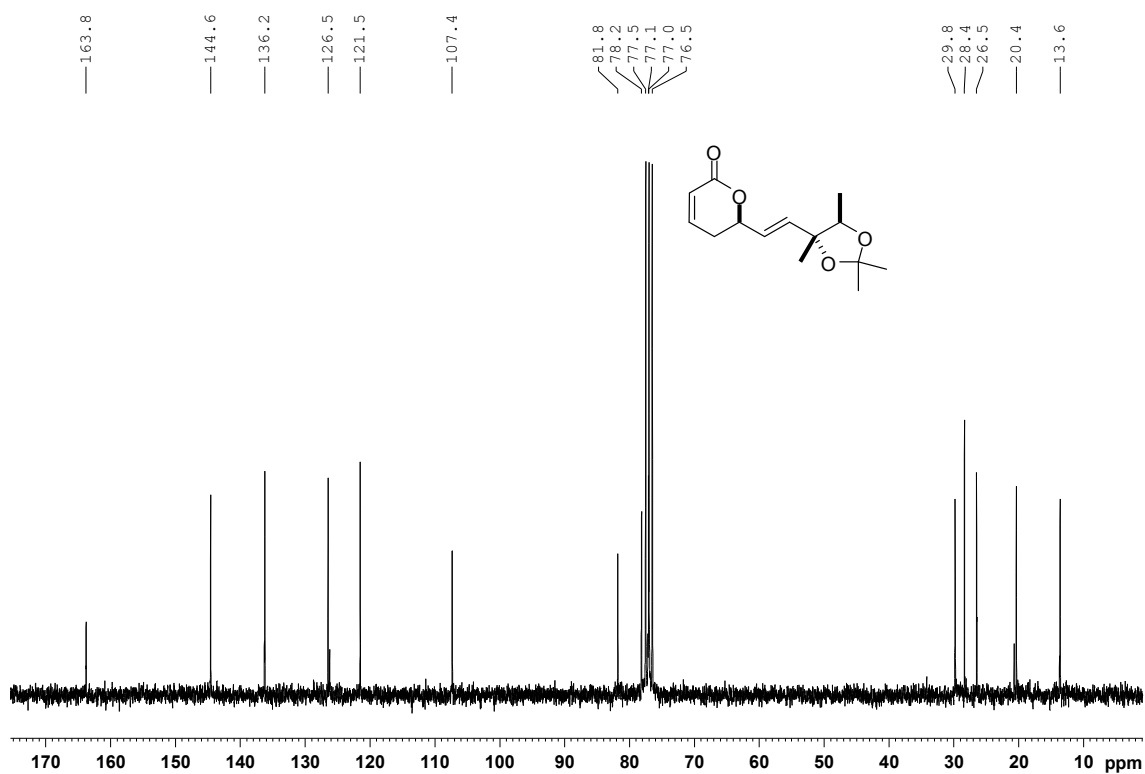
IV (filme, cm⁻¹): 2985; 2936; 2874; 1738; 1715; 1626; 1456; 1422; 1380; 1292; 1248; 1217.

EMAR: Calculado para C₁₃H₁₇O₄: 237,1127; Obtido: [M-15] = 237,1129.

[α]_D²⁵ = + 42,0 (c 2,0; CHCl₃).



Espectro de RMN-¹H (250 MHz, CDCl₃): composto 144



Espectro de RMN-¹³C (62,5 MHz, CDCl₃): composto 144