

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA

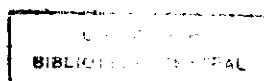
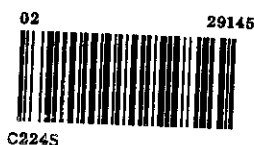
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

“SÍNTESE DE ANÁLOGOS CONFORMACIONALMENTE
RESTRINGIDOS DO ÁCIDO ASPÁRTICO E GLUTÂMICO”

MARCOS JOSÉ SOUZA CARPES
ALUNO

PROF. Dr. CARLOS ROQUE DUARTE CORREIA
ORIENTADOR

SETEMBRO-1996



UNIDADE	IL
N.º CHAMADA:	UNICAMP
	C224/5
V	Ex.
I	B. 1215
PREC.	17/00
C	☐
D	☒
PREC.	17/00
DATA	12/11/96
N.º CPD	

un 009501e 1

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

Carpes, Marcos José Souza
C224s Síntese de análogos conformacionalmente restringidos
do ácido aspártico e glutâmico. / Marcos José Souza Carpes
-- Campinas, [SP : s.n.], 1996.

Orientador: Carlos Roque Duarte Correia

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Cam-
pinas. Instituto de Química.

1. Enecarcamatos. 2. Ácido aspártico. 3. Ácido glutâ-
mico. I. Correia, Carlos Roque Duarte. II. Universidade
Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

AGRADECIMENTOS I

Ao prof. Carlos Roque pela sua orientação, incentivo e apoio, para que este projeto fosse executado.

Aos amigos do grupo, de laboratório pelas “dicas” que foram muito úteis e pelas brincadeiras descontraídas, que ajudavam a esquecer as reações que “não funciona” .

Aos técnicos do laboratório, Dona Cida, Vanda, Chicão.

A todos os colegas dos laboratórios vizinhos que sempre contribuíram com sua amizade e com algum reagente ou outro.

As técnicas do Instituto de Química: Sra Paula, Sra Sônia e Soninha (RMN), Cidão (CG-MS), Márcia e Raquel (IV) e dona Iara e dona Paula (xerox).

Ao Prof. Pilli, pelo empréstimo do aparelho de Infra Vermelho

Ao Prof. Imamura pelo empréstimo do ozonizador.

À CAPES pela bolsa fornecida, pois sem ela seria difícil a realização deste projeto.

AGRADECIMENTOS II

Aos meus pais, Moacir e Claudete pelo afeto, incentivo e confiança que contribuíram para mais esta conquista. Mesmo à distância foram imprescindíveis na realização deste trabalho.

Aos meus irmãos, Celso, Regis, Tatiane e Josiane

A Cleci, sempre ao meu lado, incentivando-me com muito carinho e dedicação, foram fundamentais. Eu dedico este trabalho a ti Cleci, pois ele é tão meu quanto teu.

Aos amigos do laboratório, Mary, Dani, Claudinha, Rodolfo, Elias, Luís, Paulão, Rafael. Como bons mocós, sempre estiveram presentes nos momentos de alegria.

Aos amigos Sandrinha e Edgar, Bóia, Skin e Roberta que fizeram parte dos bons momentos extra-curriculares.

Aos amigos do futebol, pelas inúmeras contusões e hematomas, muito saudáveis.

RESUMO

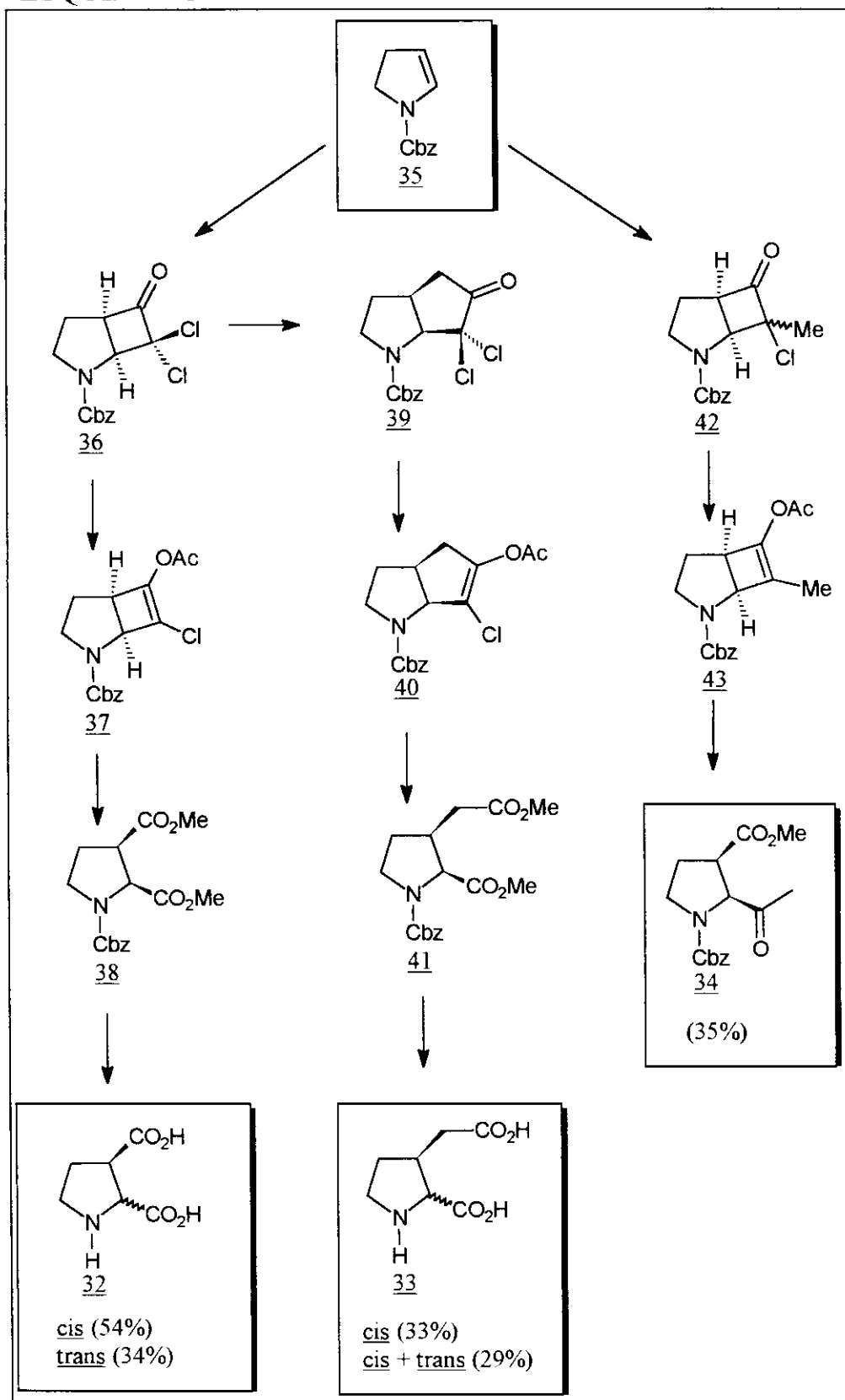
Ácido aspártico e ácido glutâmico são α -aminoácidos que apresentam pronunciadas propriedades biológicas dentre as quais atividade neuroexcitatória. Esta atividade é influenciada principalmente por restrições conformacionais que podem alterar a seletividade e afinidade destes aminoácidos por seus receptores celulares.

A síntese de α -aminoácidos conformacionalmente restringidos ganhou considerável interesse nos anos recentes devido a sua utilização como ferramenta experimental no entendimento dos processos moleculares que ocorrem no sistema nervoso central.

A funcionalização da dupla ligação do enecarbamato endocíclico 35 proporcionou, de forma eficiente, a síntese dos análogos conformacionalmente restringidos do ácido aspártico 32, ácido glutâmico 33 e do β -aminoácido 34. Esta metodologia utilizou como etapa chave uma reação de cicloadição do tipo [2+2] entre o enecarbamato 35 e um ceteno. Dicloroceteno foi usado na preparação de 32 e 33. Clorometilceteno, por outro lado, na preparação de 34. Os cicloadutos α,α -diclorociclobutanona 36 e α,α -clorometilciclobutanona 42 foram transformados regiosseletivamente ao enolacetato 37 e 43 respectivamente, através do tratamento com dimetilcuprato de lítio ou *n*-butilítio seguido de anidrido acético. O enolacetato 37 e 43 sofreram clivagem oxidativa com ozônio ou Ru^{VIII} , levando aos respectivos ésteres 38 e 34, após tratamento com diazometano. A isomerização em C-2 do diéster 38 e a remoção dos grupos de proteção forneceram seletivamente os aminoácidos cis e trans-2,3-dicarboxi-pirrolidina 32.

A cicloexpansão regiosseletiva da α,α -diclorociclobutanona 36 com diazometano forneceu a α,α -diclorociclopentanona 39, que foi transformada no enolacetato 40 mediante tratamento com dimetilcuprato de lítio e anidrido acético. O enolacetato 40 sofreu dicarboxilação oxidativa na presença de ozônio que após esterificação com diazometano levou ao diéster 41. A remoção do grupo de proteção benziloxycarbonil de 41, através de hidrogenólise, e posterior hidrólise ácida, forneceu a cis-2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina 33. A hidrólise alcalina, por outro lado, forneceu uma mistura de cis e trans-33 (o Esquema Geral fornece uma visão global do trabalho apresentado).

ESQUEMA GERAL



ABSTRACT

Aspartic and glutamic acids are α -aminoacids which show pronounced biological properties like neuroexcitatory activity, for instance. This activity is influenced by conformational restriction, which can modify the selectivity and affinity of these aminoacids to their cell receptors.

The synthesis of α -aminoacids conformationally restricted has received special attention in recent years due to their importance in the understanding of molecular processes that take place in the central nervous system.

In this sense, the conformationally restricted aspartic acid 32, glutamic acid 33, and β -aminoacid 34 were obtained, in an efficient manner, starting from enecarbamate 35. In this methodology, a [2+2] cycloaddition between enecarbamate 35 and a ketene was used as the key step. Thus, dicloroketene was used in the preparation of 32 and 33. Chloromethylketene, on the other hand, was used to obtain 34.

The cycloadducts α,α -dichlorocyclobutanone 36 and α -chloro- α -methyl-cyclobutanone 42 were regioselectively transformed into enolacetates 37 and 43, by treatment with lithium dimethylcuprate or *n*-butyllithium, followed by addition of acetic anhydride.

Oxidative cleavage of 37 and 43 by ozone or Ru^{VIII} , followed by addition of diazomethane, gave the respective esters 38 and 34. Isomerization at C-2 in 38 gave selectively, after deprotection, *cis* and *trans* 2,3-dicarboxypyrrolidine 32.

Regioselective cycloexpansion of 36 with diazomethane gave the α,α -dichlorocyclopentanone 39. This latter compound was treated with lithium dimethylcuprate and acetic anhydride to give enolacetate 40. In the presence of ozone, 40 was cleaved generating a dicarboxylic acid, which after esterification, gave diester 41. Hydrogenolysis of 41 followed by acidic hydrolysis gave *cis*-2-carboxy-3-carboxymethylpyrrolidine 33. The basic hydrolysis, on the other hand, gave a mixture of *cis* and *trans*-33.

ABREVIATURAS

Ac- acetil

AcOH- ácido acético

AIBN- azo isobutironitrila

BDP- bis(dimetilalumínio)propano-1,3-ditiolato

Cbz- benziloxicarbonil

CCF- cromatografia de camada fina

DCC- 1,3-diciclohexilcarbodiimida

DDT- 1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano

DMAP- 4-dimetilaminopiridina

DMS- dimetilsulfeto

DMSO- dimetilsulfóxido

E.M.- espectro de massa

Fmoc- 9-fluorenilmetiloxicarbonil

HMPA- hexametilfosforamida

I.V.- infravermelho

IR-120- resina aniônica

LDA- diisopropilamida de lítio

LHMDS- hexametildisilazida de lítio

MS- peneira molecular

NCS- N-clorossuccinimida

PPTS- p-toluenossulfonato de piridina

RMN ^{13}C - ressonância magnética nuclear de carbono

RMN ^1H - ressonância magnética nuclear de hidrogênio

TBDMSCl- cloreto de t-butildimetilsilano

TFA- ácido trifluoracético

THF- tetraidrofurano

ÍNDICE

CAPÍTULO 1

1- Introdução	01
1.1- Aminoácidos	01
1.2- Análogos conformacionalmente restringidos do ác. aspártico	07
1.3- Análogos conformacionalmente restringidos do ác. glutâmico	11
1.4- Objetivos	14

CAPÍTULO 2

2 - Resultados e discussão	18
2.1- Síntese da 2,3-dicarboxi-pirrolidina	18
2.1.1- Reação do enecarbamato <u>35</u> com dicloroceteno	18
2.1.2- Síntese da <u>cis</u> -dimetil-N-(benziloxycarbonil)-2,3-dicarboxi-pirrolidina <u>38</u>	20
2.1.3- Síntese da <u>cis</u> -2,3-dicarboxi-pirrolidina <u>32</u>	29
2.1.4- Síntese da <u>trans</u> -2,3-dicarboxi-pirrolidina <u>32</u>	31
2.2- Síntese da 2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina <u>33</u>	34
2.2.1- Síntese da N-(benziloxycarbonil)-6,6-dicloro-2-aza-biciclo-[3.3.0]-octan-7-ona- <u>39</u>	34
2.2.2- Síntese da <u>cis</u> -dimetil-N-(benziloxycarbonil)-2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina <u>38</u>	36
2.2.3- Síntese da <u>cis</u> - 2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina <u>33</u>	38
2.2.4- Síntese da <u>trans</u> - 2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina <u>33</u>	40
2.3- Síntese da <u>cis</u> -metil-N-(benziloxycarbonil)-2-acetil-3-carboxi-pirrolidina <u>34</u>	42
2.3.1- Síntese da N-(benziloxycarbonil)-7,7-clorometil-2-aza-biciclo-[3.2.0]-heptan-6-ona- <u>42</u>	43
2.3.2- Síntese da <u>cis</u> -metil-N-(benziloxycarbonil)-2-acetil-3-carboxi-pirrolidina <u>34</u>	45
2.4- Conclusão	48

CAPÍTULO 3

3- Experimental	49
3.1- Material e métodos	49
3.2- Síntese do trimero da 1-pirrolina	51
3.3- Síntese do N-(benziloxycarbonil)-2-pirrolina <u>35</u>	52
3.4- Síntese da N-(benziloxycarbonil)-7,7-dicloro-2-aza-biciclo-[3.2.0]-heptan-6-ona <u>36</u>	53
3.5- - Síntese da <u>cis</u> -dimetil-N-(benziloxycarbonil)-2,3-dicarboxi-pirrolidina <u>38</u>	56
3.6- Síntese da <u>cis</u> -2,3-dicarboxi-pirrolidina <u>32</u>	61
3.7- Síntese da <u>trans</u> -2,3-dicarboxi-pirrolidina <u>32</u>	66
3.8- Síntese da N-(benziloxycarbonil)-6,6-dicloro-2-aza-biciclo-[3.3.0]-octan-7-ona <u>39</u> ..	71
3.9- Síntese da <u>cis</u> -dimetil-N-(benziloxycarbonil)-2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina <u>41</u>	77
3.10- Síntese da <u>cis</u> - 2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina <u>33</u>	82
3.11- Síntese da <u>trans</u> - 2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina <u>33</u>	87
3.12- Síntese da N-(benziloxycarbonil)-7,7-clorometil-2-aza-biciclo-[3.2.0]-heptan-6-ona <u>42</u>	90
3.13- Síntese da <u>cis</u> -metil-N-(benziloxycarbonil)-2-acetil-3-carboxi-pirrolidina <u>34</u>	96
3.14- Clivagem oxidativa com Ru ^{viii} /NaIO ₄	101
- Método I	101
- Metodo II	105

CAPÍTULO 4

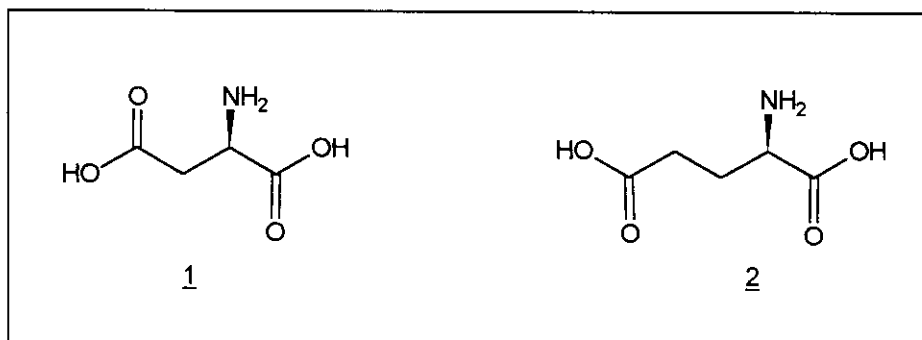
Referências bibliográficas	109
----------------------------------	-----

CAPÍTULO 1

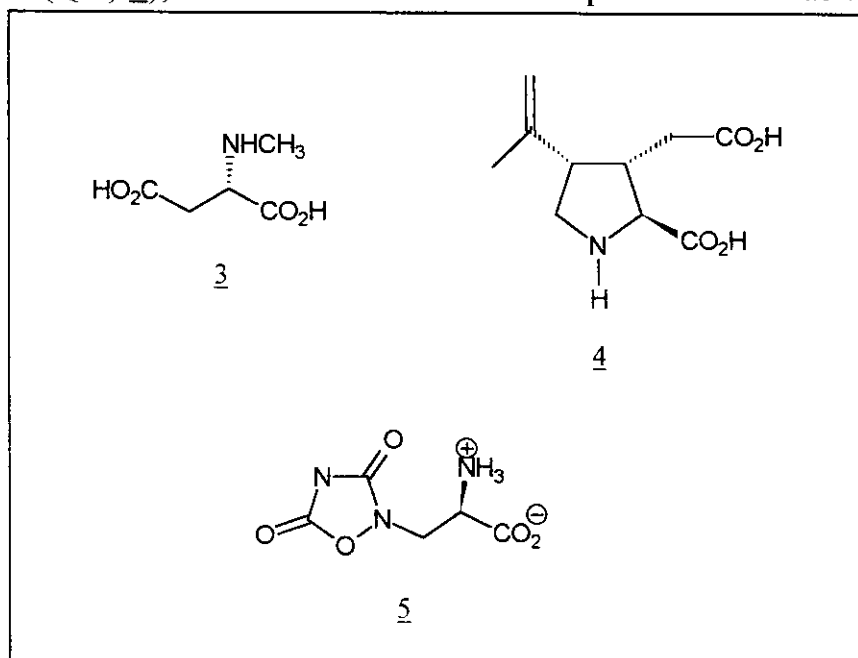
1- INTRODUÇÃO

1.1- AMINOÁCIDOS

Ácido aspártico 1 e ácido glutâmico 2 são α -aminoácidos que atuam como neurotransmissores excitatórios, intervindo nos processos de transmissões sinápticas que ocorrem no sistema nervoso central de mamíferos¹.



Os processos de transmissões sinápticas requerem a interação do aminoácido com uma variedade de proteínas, incluindo os receptores celulares (N-metil-D-aspartato(NMDA) 3, cainatos(KA) 4 e quisquilatos(QA) 5), e também sistemas de transportes e enzimas².

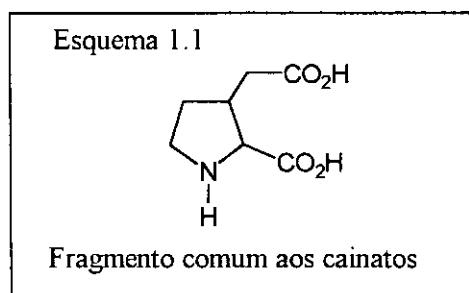


O grande interesse sobre as características funcionais, e o mecanismos de atuação dos aminoácidos cresceu em importância quando foi descoberto que níveis excessivos de glutamato, como também outros aminoácidos, eram responsáveis por desordens neurológicas tais como isquemia, hipoglicemia, epilepsia, mal de Huntingon e mal de Alzheimer³.

Os receptores celulares e seus sistemas exibem propriedades seletivas aos ligantes glutamato e aspartato para sua atividade excitatória. O glutamato e aspartato podem ligar-se aos seus receptores através de várias conformações características, já que possuem cadeias carbônicas com grande mobilidade rotacional. O glutamato por exemplo, apresenta nove conformêros em solução, dentro de uma faixa de 2,5Kcal/mol referente ao conformêro de maior energia ao conformêro de menor energia. Entretanto, apenas alguns destes conformêros podem ligar-se de forma específica ao sítio receptor. Isto demonstra a natureza conformacional pouco seletiva do glutamato e aspartato frente aos seus receptores celulares, tornando-os ferramentas pobres no estudo destes fenômenos^{3,4}.

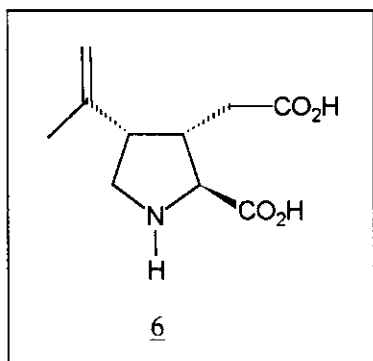
A seletividade e afinidade dos aminoácidos por seus receptores podem ser alteradas, dentre outras maneiras, através de restrições conformacionais, sendo desta forma utilizados como ferramentas experimentais no entendimento dos intrincados processos moleculares que ocorrem no sistema nervoso central. Há recentemente consideráveis interesses no desenvolvimento de análogos, em que os grupos funcionais presumivelmente responsáveis pela ligação ao seu receptor estejam em posições bem definidas com uma armação molecular relativamente rígida, diminuindo a mobilidade rotacional.

Dentre os análogos conformacionalmente restringidos do ácido glutâmico está a família dos cainatos, termo este referido a aminoácidos não proteinogênicos de ocorrência natural, que apresentam um núcleo pirrolidínico com dois substituintes carboxílicos como fragmento estrutural comum a esta família⁵ (esquema 1.1).

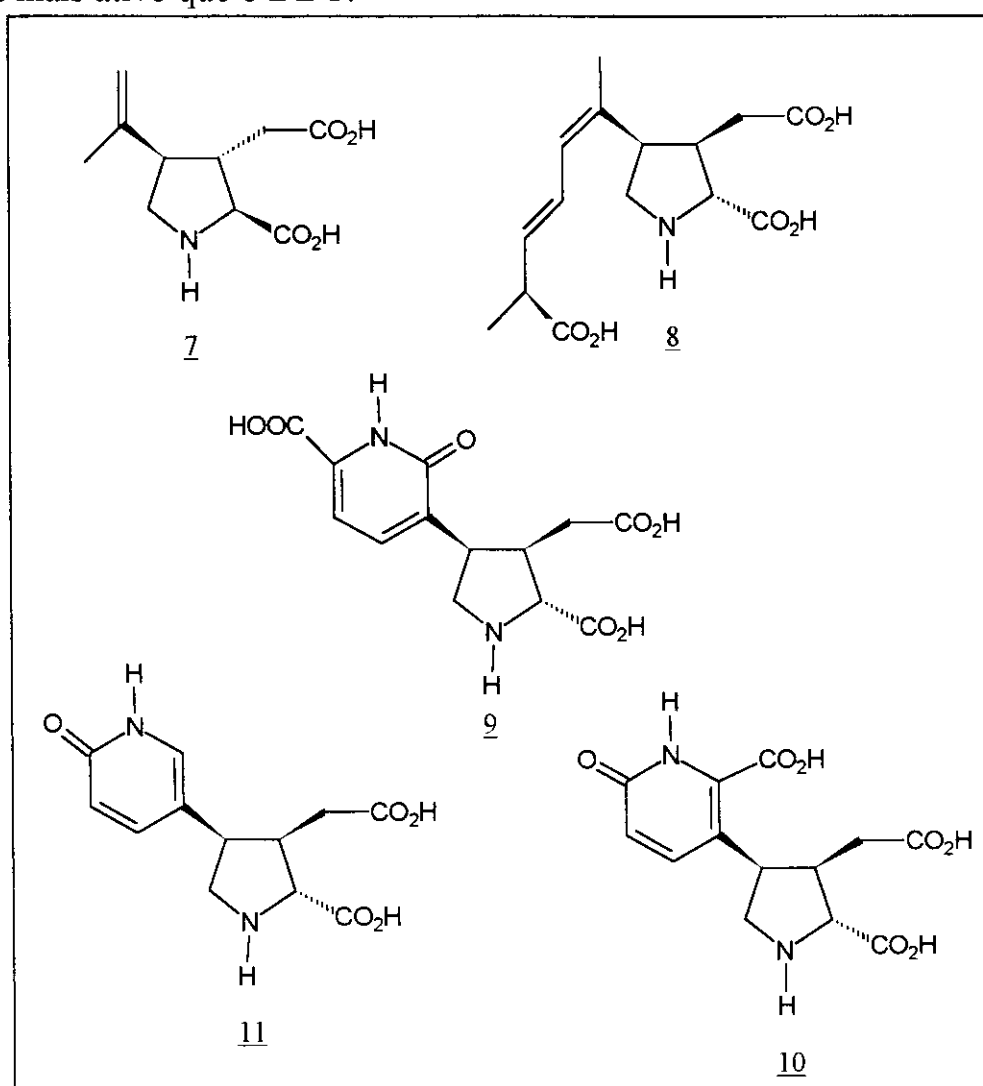


Os cainatos tem chamado a atenção dos pesquisadores devido as suas pronunciadas propriedades biológicas dentre as quais estão a atividade inseticida, anti-histamínica e principalmente a sua atividade neuroexcitatória.

Um importante membro da família dos cainatos, o ácido α -cainico 6, encontrado em algas marinhas do tipo *Digneia simplex* e *Centrocerus clavulatum*⁶. O ácido α -cainico 6 é um potente agente excitotóxico capaz de induzir lesões cerebrais semelhantes aquelas observadas no mal de Huntington e outras desordens neurodegenerativas. É também muito utilizado no Japão há milênios, como anti-histamínico.



Outros compostos estruturalmente relacionados a família dos cáinatos foram isolados e sintetizados⁷, como o seu epímero ácido α -alocainico 7, ácido domóico 8, e os ácidos acromélicos A (9), B (10) e C (11) e análogos. A atividade inseticida do ácido domóico 8 foi analisada, mostrando-se 14 vezes mais ativo que o DDT.



Além da atividade neurotransmissora, os aminoácidos não protéinogênicos de ocorrência natural e os sintéticos, (não naturais)

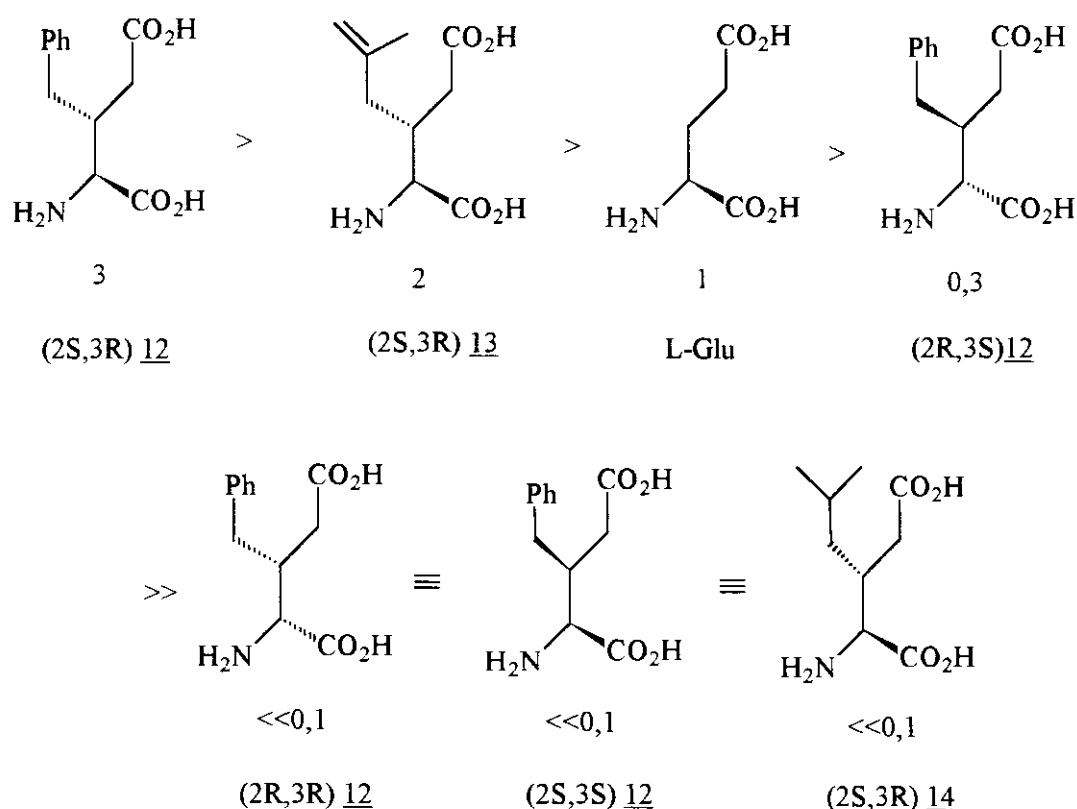
apresentam propriedades particulares tais como antimetabólitos, inibidores enzimáticos e resistência a proteases. Estas características derivam, em parte, da indução conformacional que estes aminoácidos exercem quando são incorporados a sistemas proteicos. Por isto são objetos de estudo, principalmente no entendimento dos mecanismos enzimáticos^{8,9}.

Recentemente vários grupos de pesquisa tem demonstrado interesse na síntese destes α -aminoácidos.

Com a finalidade de estudar a relação da estrutura-atividade neuroexcitatória, Shirahama¹⁰ sintetizou seis análogos acíclicos dos cainatos (esquema 1.2). Sendo que quatro são isômeros configuracionais do ácido 3-benzilglutâmico 12: (2S, 3R)-12, (2R,3S)-12, (2S,3S)-12 e (2R,3R)-12. Os outros dois são o (2S,3R)- ácido 3-metilalilglutâmico 13, e (2S,3R)- ácido 3-isobutilglutâmico 14. Os experimentos foram realizados em espinhas dorsais de ratos *in vitro* e demonstraram os seguintes resultados da relação estrutura-atividade, quando comparados com o ácido L-glutâmico (L-Glu): a configuração (2S,3R) de 12, mostrou-se a mais ativa de todas (3 vezes). O seu enantiômero (2R,3S)-12, foi consideravelmente menos ativo que o ácido L-glutâmico. Isto demonstrou que a configuração (2S,3R) atua como parte chave para a ação neuroexcitatória. O análogo (2S,3R)-13 exibiu uma forte atividade, enquanto que o análogo (2S,3R)-14 quase nenhuma atividade, mostrando que os elétrons π sobre o substituinte β aumentam consideravelmente a atividade neuroexcitatória.

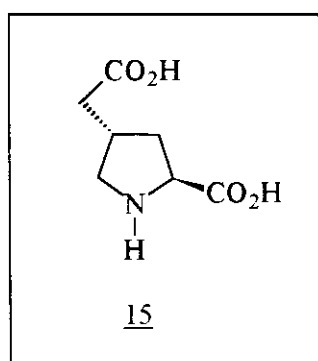
Os análogos (2S,3R)-12 e (2S,3R)-13 apresentaram atividade neuroexcitatória muito menor, quando comparados com o ácido α -caínico 6. Isto demonstrou que o anel pirrolidínico dos cainatos provavelmente proporciona uma conformação adequada ao sítio ligante do seu receptor.

Esquema 1.2



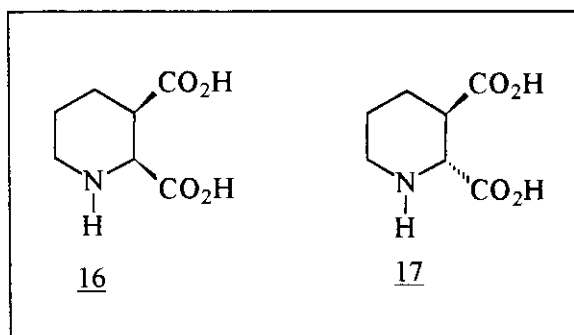
A síntese de α -aminoácidos conformacionalmente restringidos vem crescendo muito nos anos recentes devido a revolução na biologia molecular, tornando-se um campo promissor para a síntese de novos análogos.

Entre estes análogos cíclicos está o ácido 2-amino adípico 15, que demonstrou ser um antagonista seletivo a receptores NMDA¹¹.

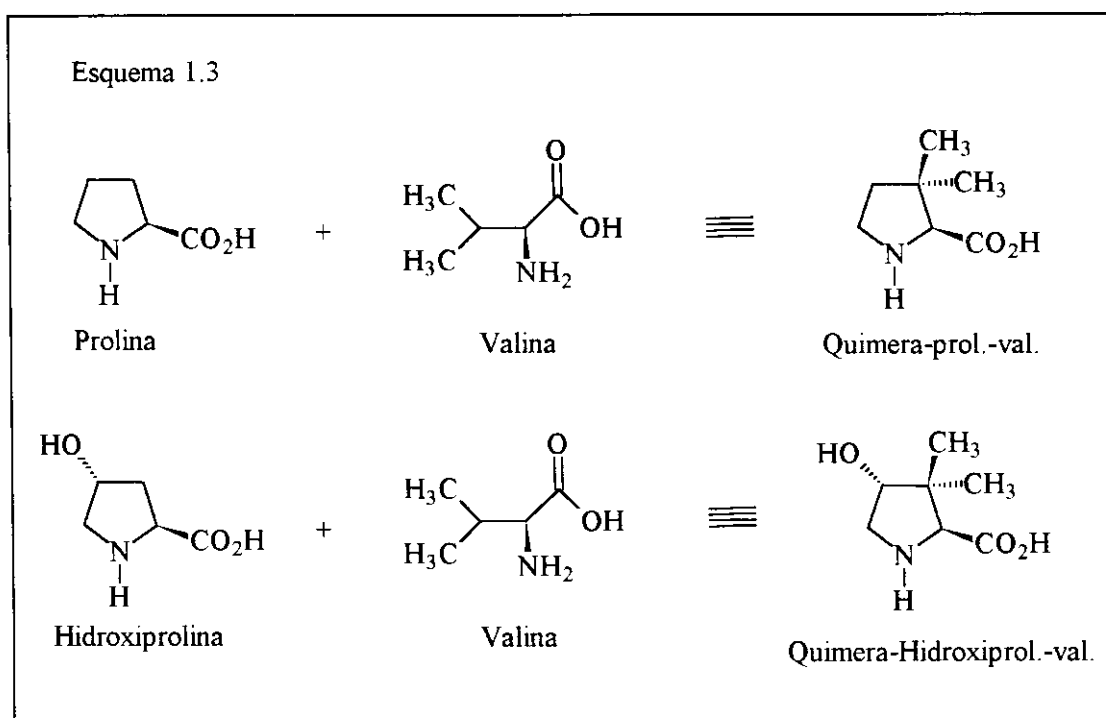


Análogos cíclicos do ácido aspártico, cis e trans-2,3-dicarboxi-piperidina 16 e 17 respectivamente, foram obtidos em sua forma enantiopura

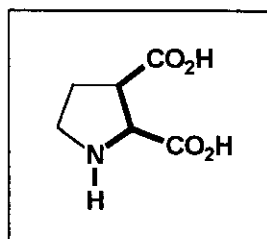
por Agami¹². Estes sistemas cíclicos de seis membros, demonstraram atividade agonista a receptores NMDA.



Lubell¹³ sintetizou análogos da prolina que apresentam características de outros aminoácidos, isto é, dois ou mais aminoácidos naturais incorporados no mesmo esqueleto prolínico. Estas substâncias híbridas foram denominadas por Lubell de “quimeras”, e são importantes ferramentas em estudos de atividade biológica de aminoácidos naturais e peptídeos (esquema 1.3).

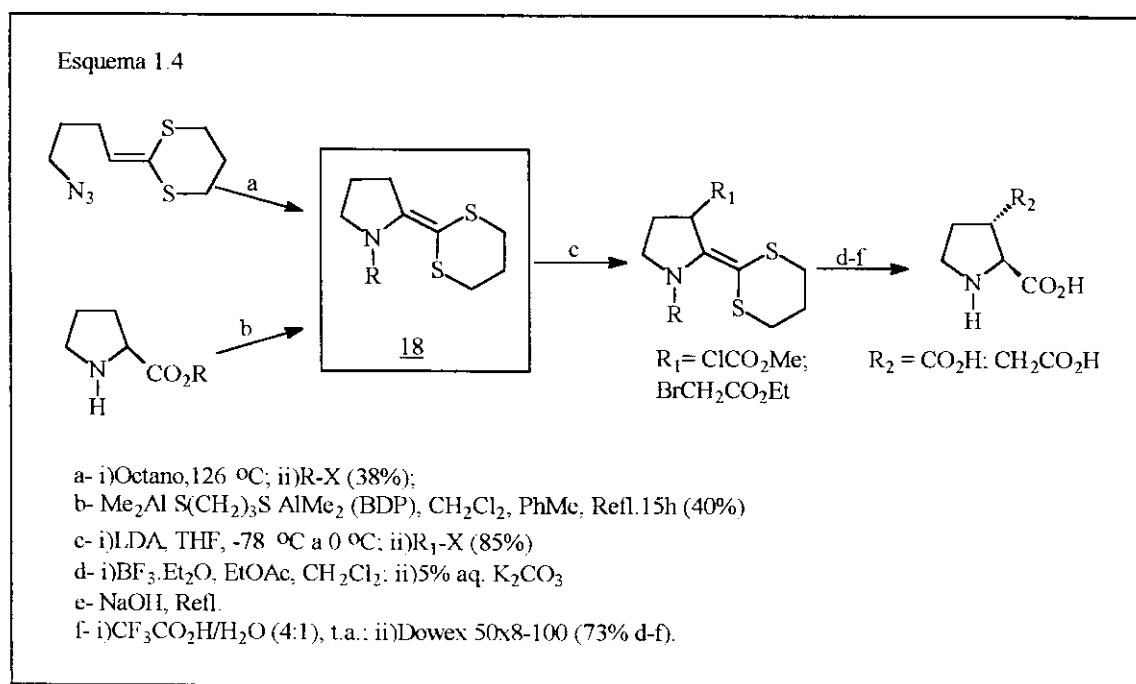


1.2- ANÁLOGOS CONFORMACIONALMENTE RESTRINGIDOS DO ÁCIDO ASPÁRTICO (2,3-DICARBOXI-PIRROLIDINA).



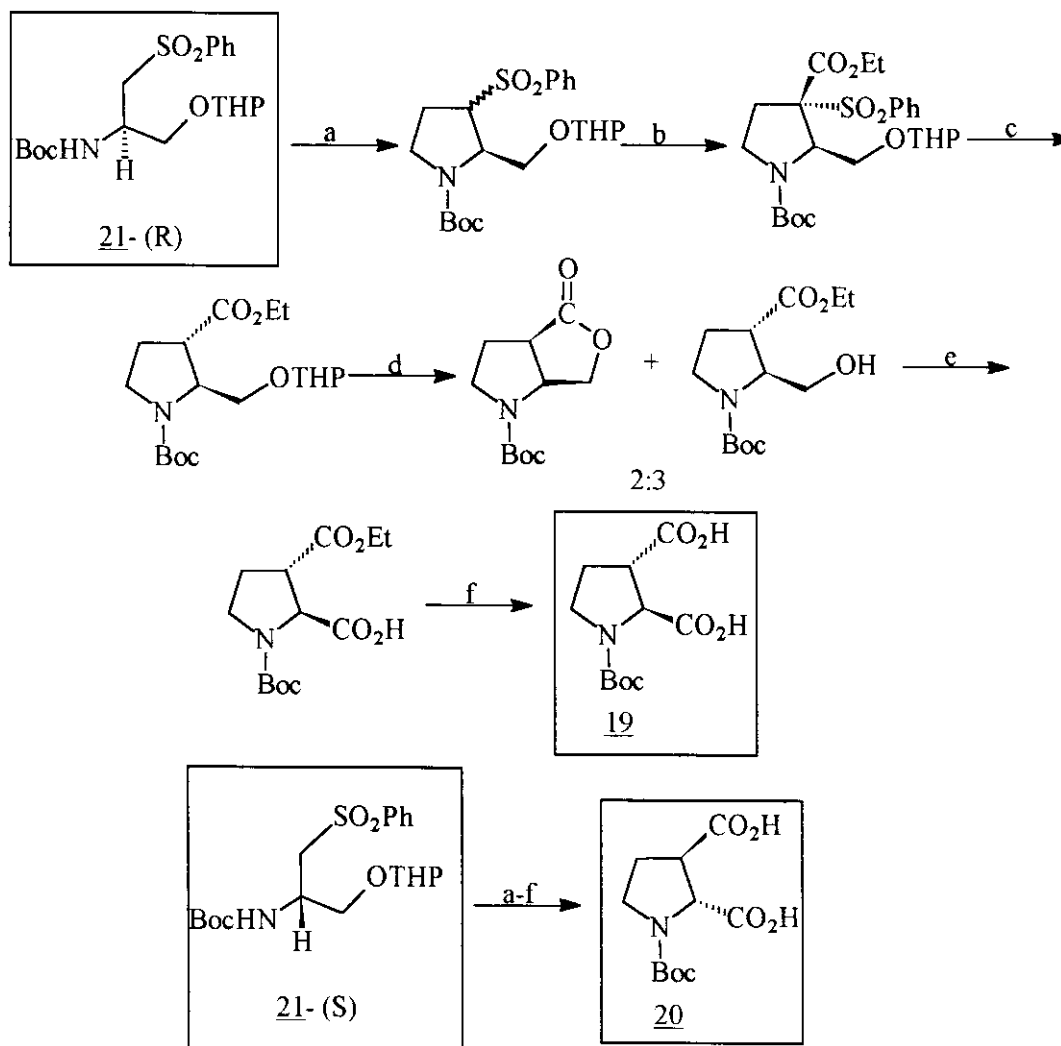
Os análogos cíclicos do ácido aspártico, com relevado interesse na estereoquímica ao redor do anel pirrolidínico, vem atraindo a atenção dos pesquisadores devido as suas pronunciadas propriedades biológicas.

Moss¹⁴ sintetizou várias prolinas 3-substituídas entre as quais a 3-carboxi-prolina. O sucesso da sua síntese baseou-se na formação do 2-amino ceteno S,S-acetal 18 (um equivalente homoenolato). Tratamento de 18 com LDA forneceu o ânion alílico estabilizado, que foi alquilado com diversos haletos de alquila fornecendo uma variedade de prolinas 3-substituídas (esquema 1.4).



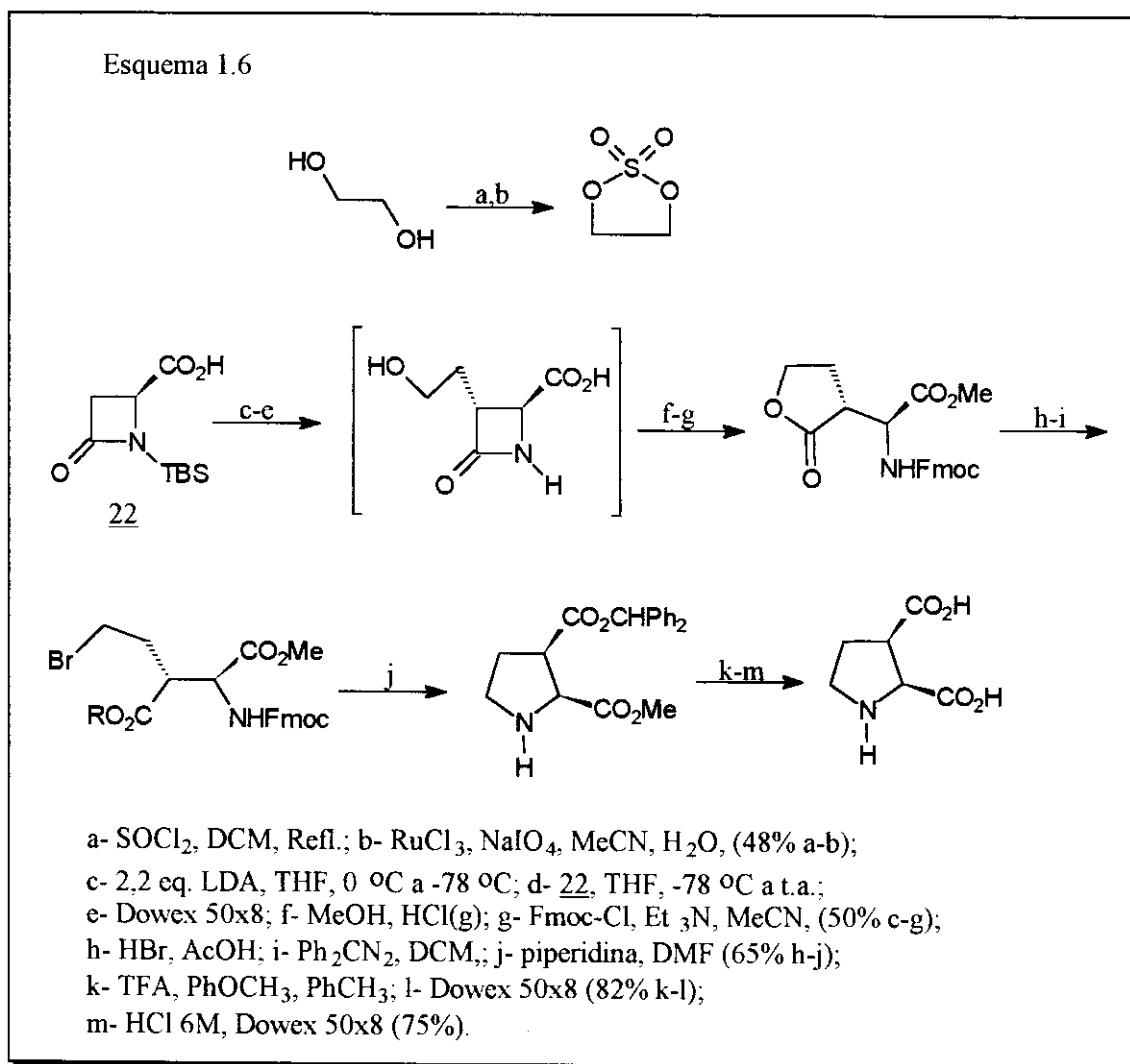
Na síntese enantiosseletiva da (2S,3S) e (2R,3R)-N-(Boc)-2,3-dicarboxi-pirrolidina 19 e 20, respectivamente, Sasaki¹⁵ demonstrou que derivados da serina 21-(R) e 21-(S) podem ser transformados facilmente em sistemas de anéis heterocíclicos de 5, 6, 7 e 8 membros, através de reações de adição a eletrófilos possuindo 2 centros eletrofílicos diferentes (esquema 1.5).

Esquema 1.5



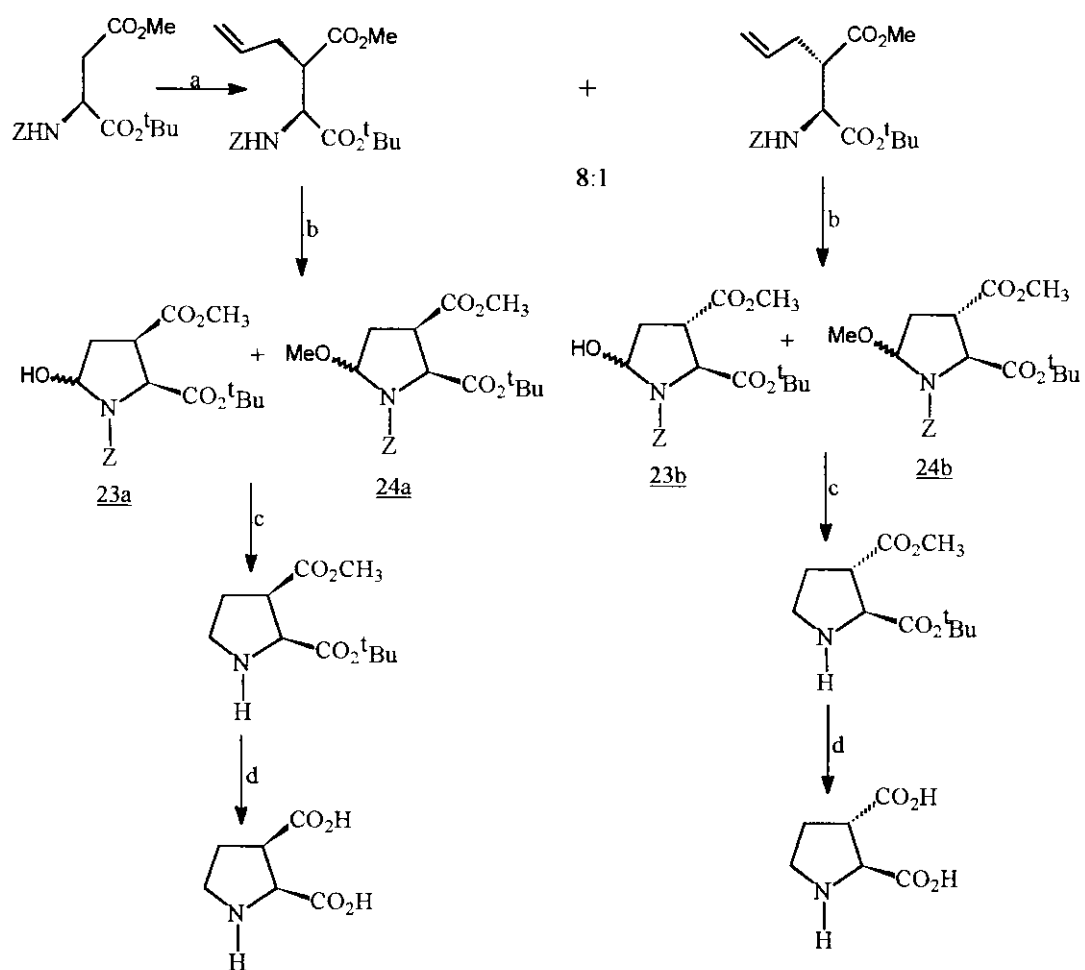
- a- i) 2eq. *n*-Buli, THF, 1,2eq. ii) $\text{Br}(\text{CH}_2)_2\text{Cl}$, -78°C t.a. (90 %);
 b- 1eq. *n*-Buli, THF, 3eq. HMPA, 1,2eq. ClCO_2Et -78°C -t.a. (93%);
 c- 6% Na-Hg, EtOH, -10°C , 5h, (50-60%);
 d- EtOH, 0,1eq. *p*-tolueno sulfonato de piridina, 60°C , 3h, (90%);
 e- Oxidação de Jones, acetona, 0°C , 1h, (78%);
 f- 1N NaOH, MeOH, t.a., 1h, (92%).

Baldwin¹⁶ relatou a síntese da (2S, 3R)-3-carboxiprolina utilizando uma alquilação estereoespecífica da (4S)-N-(t-butildimetilsilil)azetidina-2-ona-4-ácido carboxílico 21 com o sulfato cíclico derivado do etileno glicol como etapa chave da síntese (esquema 1.6).



Utilizando o ácido aspártico como material de partida Cotton¹⁷ desenvolveu a síntese assimétrica da (2S, 3R) e (2S, 3S)-3-carboxiprolina, utilizando como etapa chave uma β-alquilação do bisenolato com o brometo alílico. Posterior ozonólise da ligação dupla levou ao aldeído, que ciclizou espontaneamente formando os aminaís 23a e 24a e os aminoéteres 23b e 24b. Estes últimos foram reduzidos na presença de hidrogênio e paládio fornecendo as 3-carboxiprolina (esquema 1.7).

Esquema 1.7



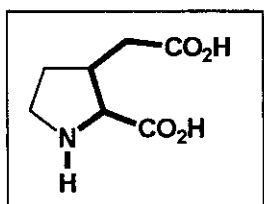
a- i) 2eq. LiHMDS, THF; ii) $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{Br}$ (59%)

b- i) O_3 / MeOH/ AcOH; ii) Me_2S (85%)

c- H_2 / Pd/C (87%)

d- HCl 6M (55%)

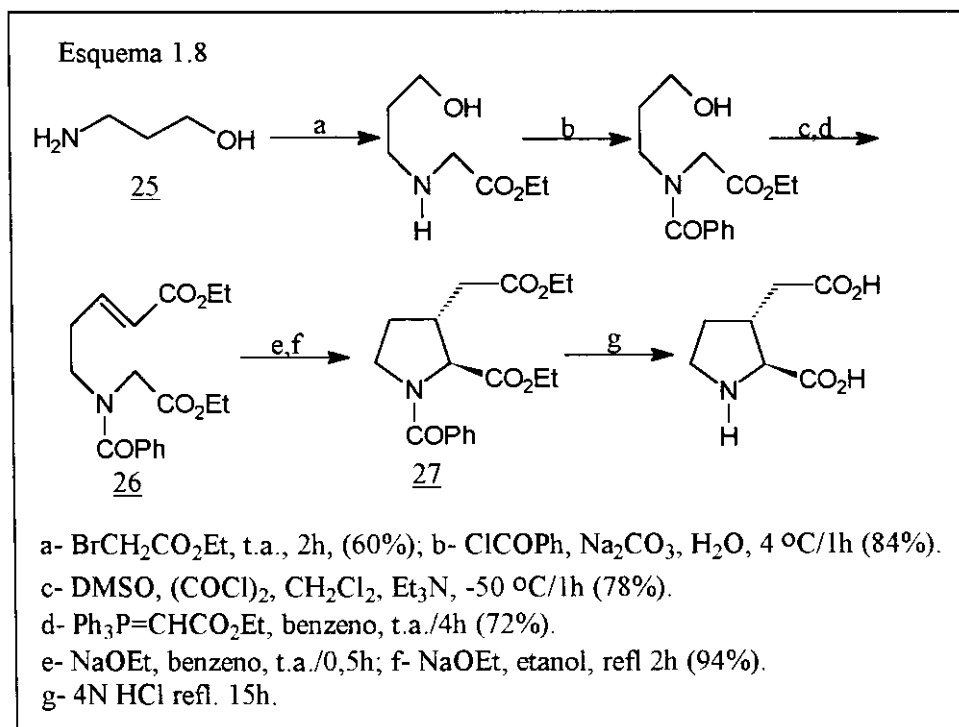
1.3- ANÁLOGOS CONFORMACIONALMENTE RESTRINGIDOS DO ÁCIDO GLUTÂMICO (2-CARBOXI-3-CARBOXIMETIL-PIRROLIDINA).



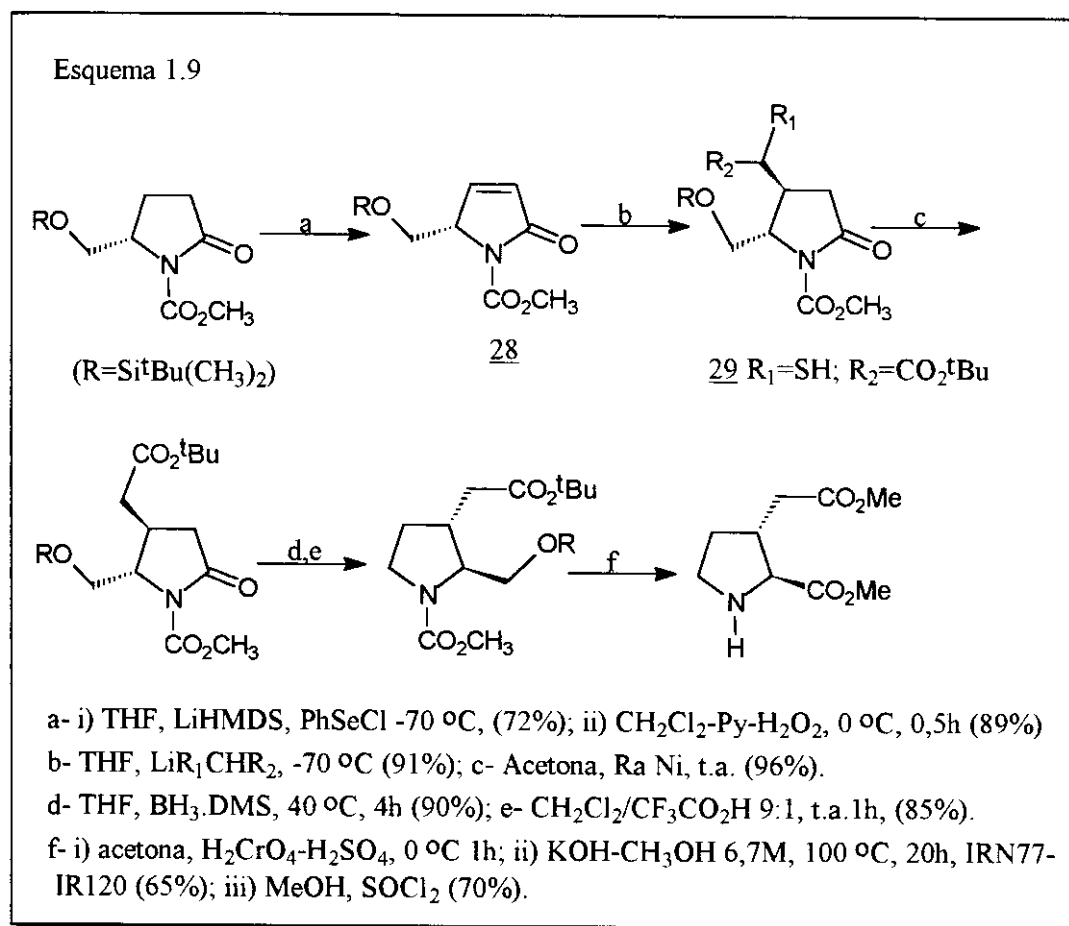
A porção glutâmica inserida no esqueleto da prolina (quimera-prolina-glutamato) produz restrições conformacionais ao ácido glutâmico, tornando-o um excelente substrato em estudos de biologia molecular e nos processos do aprendizado e memória¹⁸.

Vários grupos de pesquisa vêm desenvolvendo novas metodologias na síntese destes compostos.

Yoo¹⁹ sintetizou diastereosseletivamente a trans-3-carboxiprolina a partir do aminoalcool 25, utilizando em sua estratégia uma reação de Michael intramolecular a partir do intermediário chave 26. O fechamento do anel forneceu uma mistura de diastereoisômeros trans-cis(70:30), que foi levado ao equilíbrio em meio básico, conduzindo a uma mistura diastereoisomérica (trans:cis; 95:5). do composto 27 (esquema 1.8).

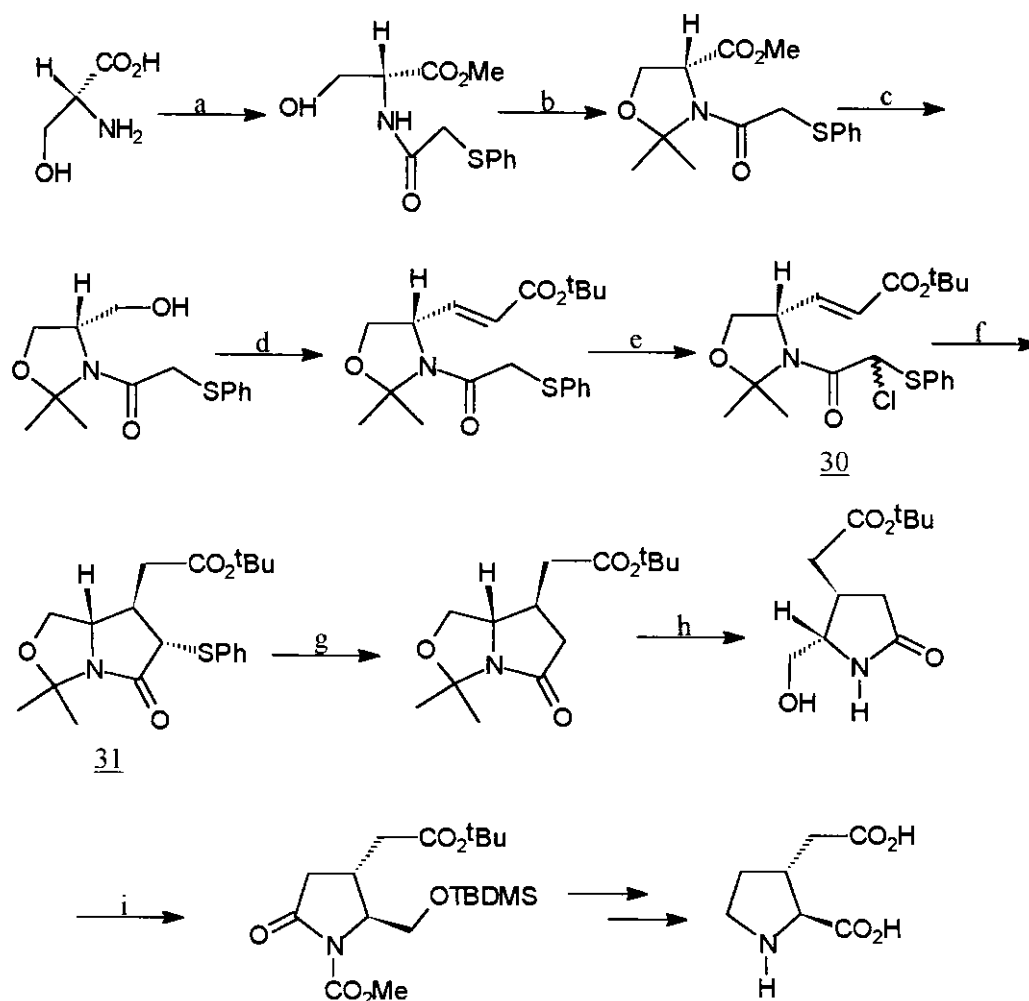


Langlois²⁰ sintetizou diastereosseletivamente o análogo glutâmico (2S,3R)-2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina, utilizando como material de partida o ácido (S)-piroglutâmico, que foi transformado na lactama α,β -insaturada 28. A etapa chave de sua síntese fez uso de uma adição de Michael estereocontrolada com nucleófilos apropriados, obtendo a lactama 1,4-substituída 29 (esquema 1.9).



Uma outra rota sintética da (2S,3R)-2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina foi desenvolvida por Ikeda²¹. Neste trabalho Ikeda utiliza a D-serina como material de partida, e após sucessivas transformações obtém o intermediário chave, o α -clorosulfeto 30, que sofre uma ciclização radicalar, obtendo o composto 31 em alta regio e diastereosseletividade (esquema 1.10).

Esquema 1.10

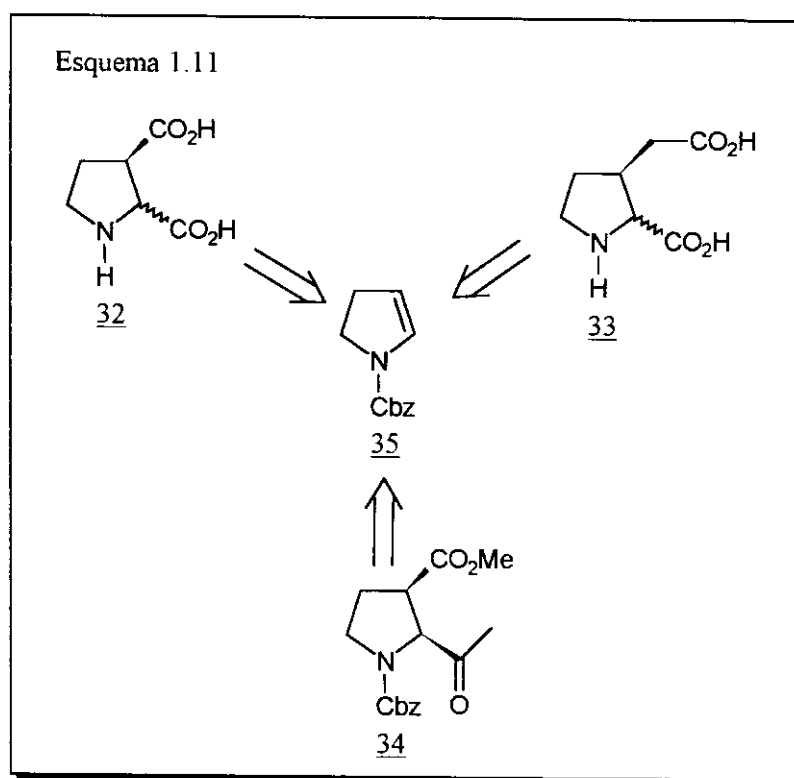


- a- i) SOCl_2 , MeOH; ii) $\text{PhSCH}_2\text{CO}_2\text{H}$, DCC, Et_3N (86%);
 b- $\text{Me}_2\text{C}(\text{OMe})_2$, p-TsOH, MS 4 A (76%); c- NaBH_4 , LiI, THF, (92%);
 d- i) DMSO, Py-SO₃, Et_3N ; ii) $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{CO}_2^t\text{Bu}$, LiCl, (i-Pr)₂NEt (84%);
 e- NCS, 100%; f- Bu_3SnH , AIBN, (51%); g- Ni_2B , EtOH, (70%); h- PPTS, MeOH;
 i- i) TBDMSCl, imidazol, THF; ii) ClCO_2Me , NaH, KI, THF, (46% h-i).

1.4- OBJETIVOS

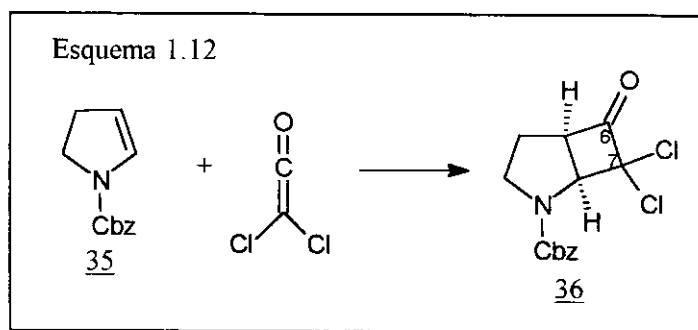
A grande importância biológica dos aminoácidos conformacionalmente restringidos despertou nosso interesse pelo desenvolvimento de novas metodologias na preparação desses compostos.

Apresentamos neste trabalho uma nova abordagem para a síntese racêmica da 2,3-dicarboxi-pirrolidina 32, 2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina 33 e N-(Cbz)-2-acetil-3-carboxi-pirrolidina 34. Nesta abordagem os aminoácidos podem ser obtidos através da funcionalização da dupla ligação de enecarbamatos endocíclicos 35 (esquema 1.11).

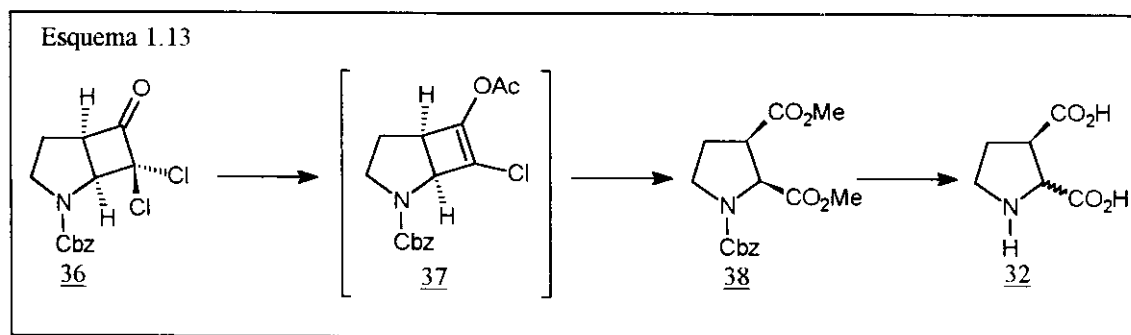


A nossa estratégia para a síntese destes aminoácidos envolve como etapa chave a funcionalização do enecarbamato 35 em C-2 e C-3 através de uma reação de cicloadição [2+2] com cetenos.

A síntese da 2,3-dicarboxi-pirrolidina 32 foi planejada tendo como intermediário chave a α,α -diclorociclobutanona 36, que pode ser obtida através da reação de cicloadição [2+2] com dicloroceteno (esquema 1.12).

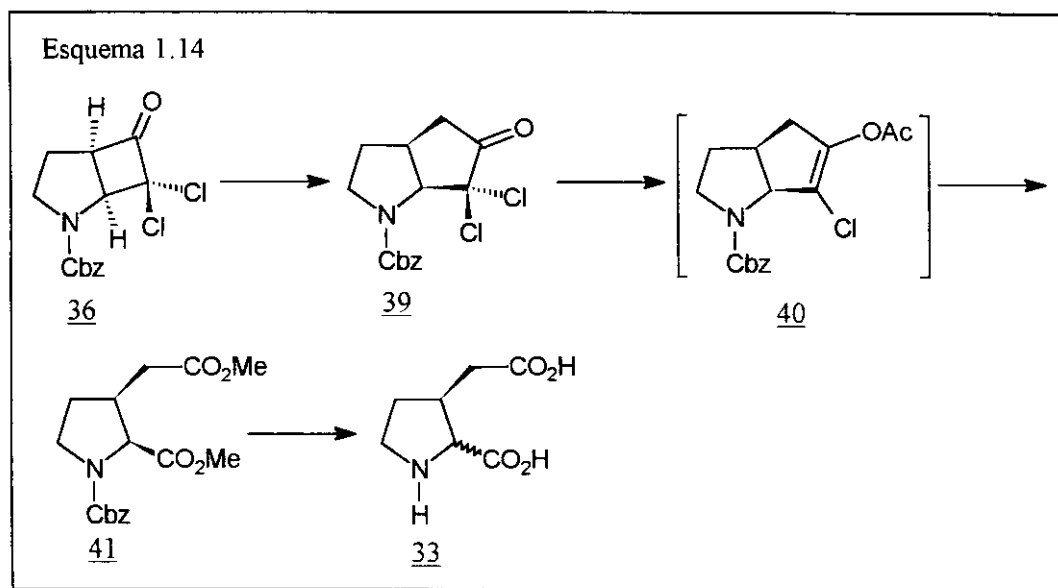


A α,α -diclorociclobutanona 36 apresenta o esqueleto básico para a construção deste análogo, sendo necessária uma clivagem oxidativa da ligação C_6-C_7 . Esta clivagem envolveria um substrato adequado, o enolacetato 37 que seria formado regioseletivamente através de uma reação de troca metal-halogênio. A utilização de n-butilítio ou dimetilcuprato de lítio formaria o α -cloroenolato que seguido de acilação com anidrido acético levaria ao enolacetato 37. Este substrato poderia ser clivado oxidativamente, utilizando o sistema oxidante $\text{Ru}^{\text{VIII}}/\text{NaIO}_4$ ou ozônio. O produto primário da clivagem forneceria o isômero *cis*, que mediante condições de isomerização em C-2 levaria ao isômero *trans*; ambos são aminoácidos importantes para estudos de atividades biológicas (esquema 1.13).



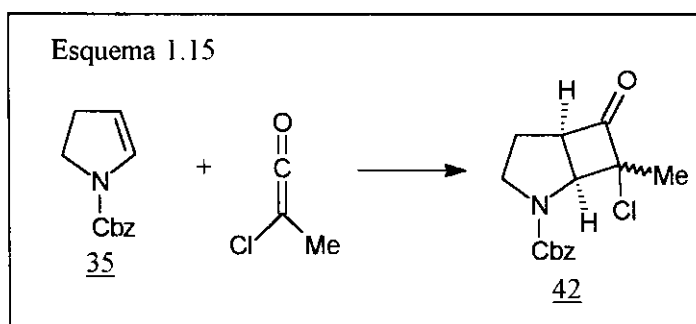
A obtenção da 2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina 33 envolveria a mesma metodologia, apenas o substrato da clivagem seria diferente. A inserção regioseletiva de um metileno na posição em C-3 da α,α -diclorociclobutanona 36 levaria à ciclopentanona 39. Este metileno seria inserido através de uma reação de cicloexpansão regioseletiva da α,α -diclorociclobutanona 36 com diazometano. A α,α -diclorociclopentanona 39 apresentando a estrutura carbônica necessária para a construção deste análogo sofreria clivagem oxidativa através da sequência de reações: a)

tratamento com n-butilítio ou dimetilcuprato de lítio seguido de anidrido acético levaria ao enolacetato 40 regiosseletivamente; b) o enolacetato 40 na presença de $\text{Ru}^{\text{VIII}}/\text{NaIO}_4$ ou ozônio levaria ao produto primário da clivagem, o isômero cis, que sob condições de isomerização em C-2 levaria aos isômero trans (esquema 1.14).



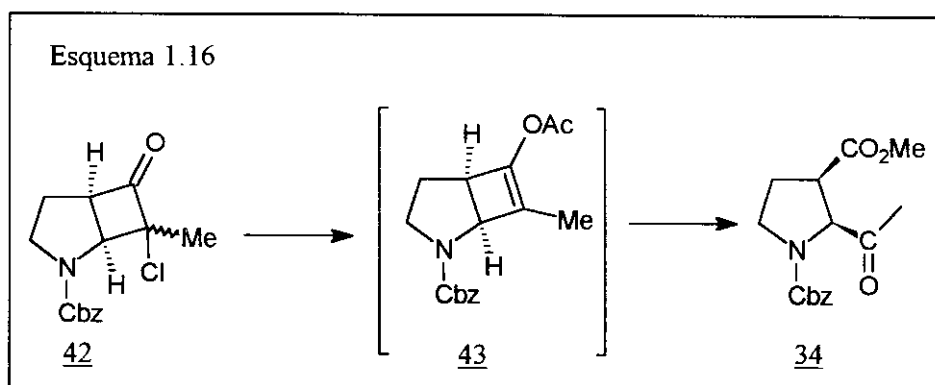
A aplicação desta estratégia a halocetenos substituídos levaria a outros compostos em substituição aos dicarboxilados. Isto demonstraria a versatilidade da metodologia, que com uma pequena modificação a nível do ceteno, introduziria substituintes em C-2 com características funcionais diferentes.

A preparação do N-(Cbz)-2-acetil-3-carboxi-pirrolidina 34 envolveria como etapa chave a reação de cicloadição [2+2] do enecarbamato endocíclico 35 com clorometilceteno, produzindo o cicloaduto α,α -clorometilciclobutanona 42 (esquema 1.15).



A α,α -clorometilciclobutanona 42 seria então transformada no substrato da clivagem oxidativa, o enolacetato 43, mediante a reação de troca metal-halogênio levando ao α -cloroenolato. Este por sua vez seria acilado com anidrido acético levando ao composto 43. A clivagem oxidativa de 43 através da reação com ozônio forneceria o composto 34, precursor de um β -aminoácido.

A presença de um substituinte α -cetônico torna o substrato mais versátil em transformações químicas, podendo levar a outras estruturas mais complexas (esquema 1.16).



CAPÍTULO 2

2- RESULTADOS E DISCUSSÃO

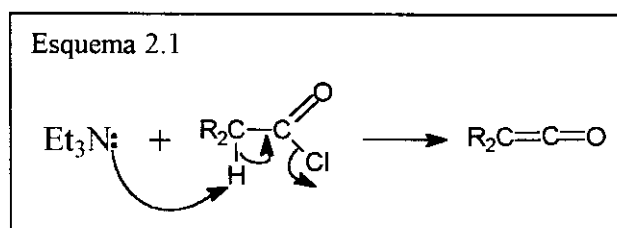
2.1- SÍNTESE DA 2,3-DICARBOXI-PIRROLIDINA 32

Tendo em vista a síntese do análogo cíclico do ácido aspártico 32, o primeiro passo nesta síntese foi a funcionalização em C-2 e C-3 do enecarbamato endocíclico 35. Este por sua vez foi obtido através da metodologia desenvolvida por Kraus²² e bastante utilizada em nosso grupo de pesquisa²³.

2.1.1- REAÇÃO DE CICLOADIÇÃO [2+2] DO ENECARBAMATO 35 COM DICLOROCETENO

Os cetenos são compostos muito reativos devido ao seu elevado caráter eletrofílico, por isto são produzidos e usados imediatamente. Os cetenos em repouso, mesmo por pouco tempo, reagem formando dímeros.

Os métodos mais comuns na preparação de cetenos incluem uma amina terciária, geralmente trietilamina, que reage com cloreto de ácido contendo pelo menos um hidrogênio no carbono- α (esquema 2.1).



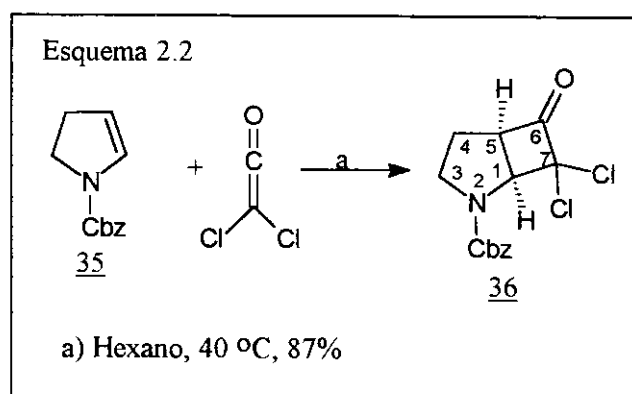
Podem também ser preparados através de uma desalogenação de um cloreto de α -haloacila ou pirólise de um anidrido ou de dímero do ceteno.

Os cetenos reagem com ácidos carboxílicos, álcoois e aminas, formando anidridos, ésteres e amidas respectivamente. Também reagem na dupla ligação de carbonos através de cicloadições [2+2] térmica, gerando derivados de ciclobutanonas.

A metodologia para a preparação da α,α -diclorociclobutanona 36 foi desenvolvida em nosso grupo de pesquisa por Faria e Correia²³.

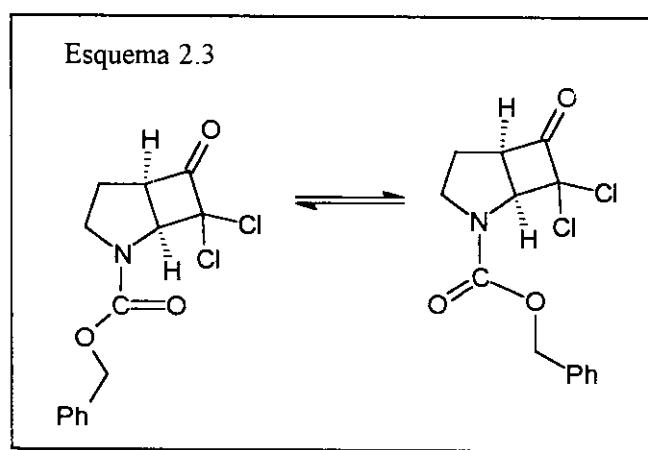
A reação de cicloadição do tipo [2+2] do enecarbamato 35 com dicloroceteno, gerado “in situ”, em hexano a 40 °C forneceu a α,α -

diclorociclobutanona 36 em 87% de rendimento, após isolamento e purificação (esquema 2.2).



A caracterização da α,α -diclorociclobutanona 36 foi realizada unicamente através de I.V. e RMN ^1H , já que esta substância era conhecida. A análise do espectro de I.V. apresentou duas bandas intensa em 1809 cm^{-1} devido ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ da ciclobutanona e em 1710 cm^{-1} referente ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ do carbamato.

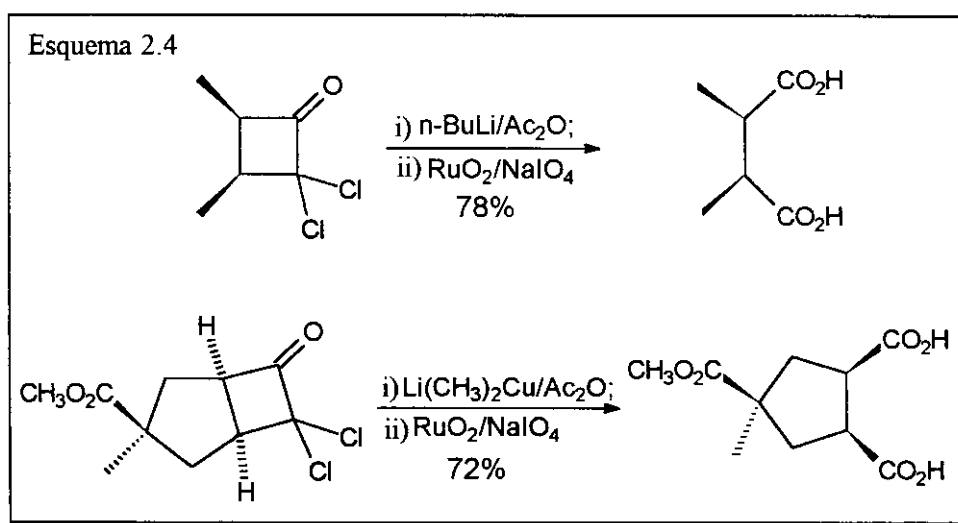
O espectro de RMN ^1H a $25\text{ }^\circ\text{C}$ apresenta sinais duplicados devido a presença de rotâmeros, causados pela rotação impedida da ligação $\text{C}-\text{N}$, comportamento típico de amidas dissustituídas, devido principalmente ao seu caráter parcial de dupla ligação e ao impedimento estérico da molécula. Esta elevada barreira rotacional é suficiente para que estas sejam detectadas durante a ressonância magnética nuclear como sendo duas substâncias diferentes (esquema 2.3).



A análise do espectro de RMN ^1H confirmou o desaparecimento dos sinais em 5.04 ppm e 6,54 ppm referentes aos hidrogênios da ligação dupla do

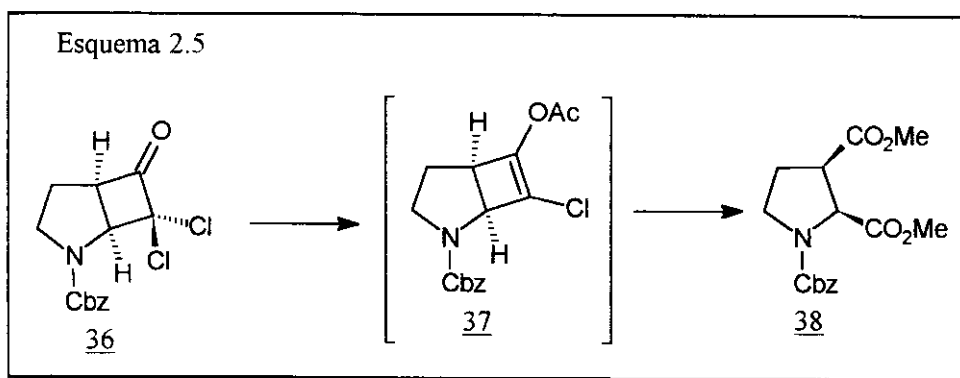
enecarbamato, e o surgimento de um dubleto em 4,78 e 4,90 ppm ($J=7,3$ Hz), referente ao hidrogênio em C-2.

O hidrogênio em C-5 agora representa um próton α -carbonílico e não mais vinílico, portanto está em campo mais alto apresentando-se como um multipeto em 4,2 ppm. Estando estes dados de acordo com a literatura²³, o próximo passo foi a clivagem estereoespecífica da α,α -diclorociclobutanona 36. Como indicado anteriormente o processo de clivagem planejado envolvia a formação inicial de um enolacetato, e posterior ruptura da dupla ligação do enolacetato com Ru^{VIII} . Este processo desenvolvido por Greene²⁴ foi empregado com bastante sucesso em outros substratos com ótimos rendimentos e alta seletividade na obtenção dos derivados dicarboxilados (esquema 2.4).



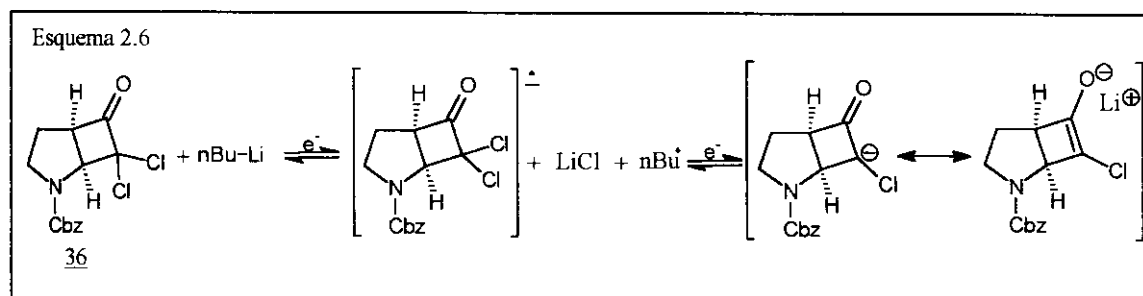
2.1.2 SÍNTESE DA CIS-DIMETIL-N-(BENZOLOXICARBONIL)-2,3-DICARBOXI-PIRROLIDINA 38.

O diéster 38 foi obtido diretamente da α,α -diclorociclobutanona 36 em duas etapas, empregando-se a metodologia da dicarboxilação vicinal de Greene. A primeira etapa envolveu a transformação de 36 em uma olefina tetrassubstituída^{24,25} (enolacetato 37). A segunda etapa inclui a clivagem oxidativa^{24,26} de 37 (esquema 2.5).



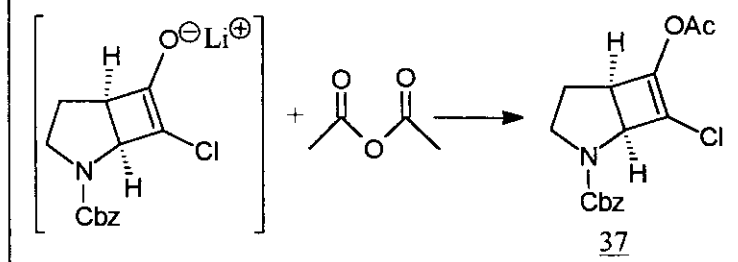
A formação do enolacetato 37 baseou-se na geração regioselectiva do α -cloroenolato. Este enolato gerado “in situ” foi acilado com anidrido acético, fixando a dupla ligação.

A formação regioselectiva do α -cloroenolato pôde ser realizada facilmente utilizando-se alquilítio (R-Li), através de uma reação característica destes compostos, denominada de troca metal-halogênio²⁷. O mecanismo²⁸ que envolve este tipo de reação passa aparentemente via SET (Single Electron Transfer). Inicialmente ocorre a transferência de um elétron do alquilítio para o haleto de alquila gerando um ânion radical. Uma vez formado o ânion-radical, este se decompõe rapidamente para formar um radical, que novamente recebe outro elétron formando o ânion. Como esta reação é reversível, o equilíbrio favorece o organolítio que melhor estabilizar o carbânion formado. Para o nosso sistema o equilíbrio está deslocado na formação do α -cloroenolato, porque possui um átomo eletroatraente (cloro) na posição α ao carbânion e também apresenta uma carbonila que pode deslocar, por ressonância, a carga, estabilizando o α -cloroenolato (esquema 2.6).



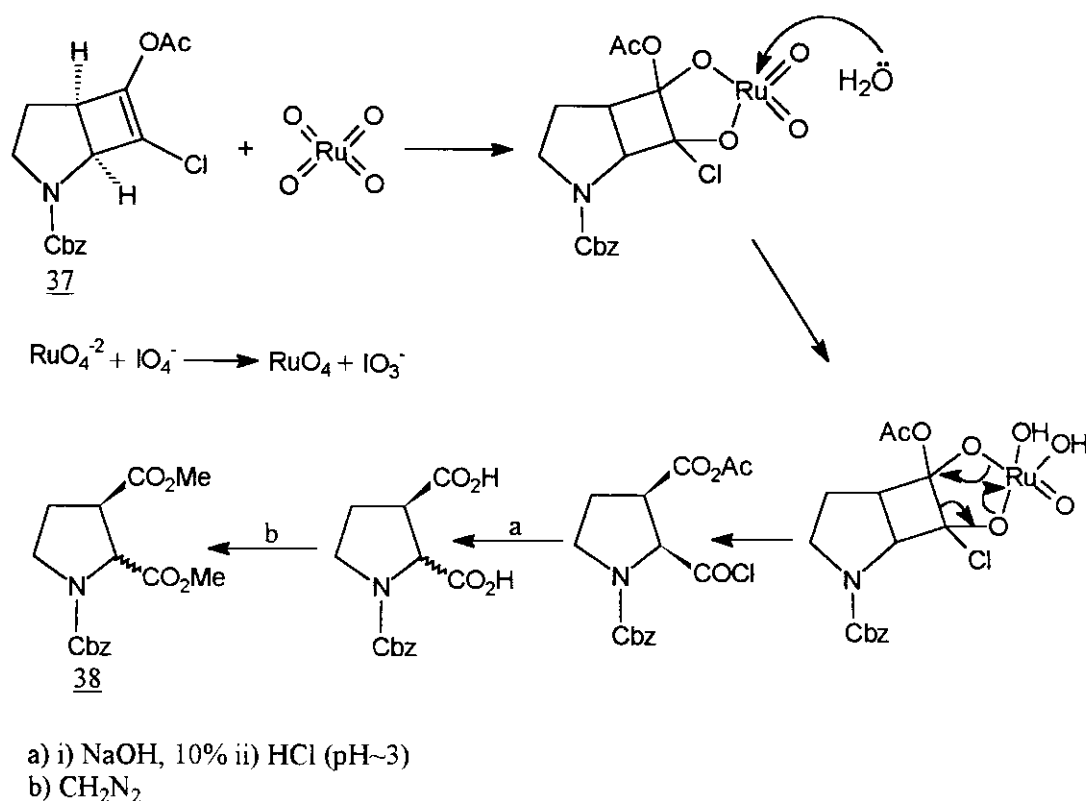
Em presença de anidrido acético, o α -cloroenolato formado sofre reação de acilação formando o enolacetato 37 (esquema 2.7).

Esquema 2.7



Devido a instabilidade do enolacetato **37**, (também constatada por Greene em seus substratos) o mesmo foi utilizado na segunda etapa sem isolamento e purificação. O enolacetato **37** foi clivado oxidativamente utilizando-se Ru^{VIII} como agente oxidante²⁶ e periodato de sódio como co-oxidante. O produto primário da clivagem forneceu um anidrido misto e um cloreto de ácido com estereoquímica relativa *cis* que sob condições básicas hidrolisa para o diácido. Com o intuito de facilitar sua purificação, o diácido gerado foi transformado no diéster **38**, através da reação de esterificação com diazometano (esquema 2.8).

Esquema 2.8



O diéster 38 obtido pela reação acima era, para nossa surpresa, uma mistura diastereoisomérica de produtos cis e trans. A separação dos isômeros em cromatografia “flash” nos levou a uma proporção dos produtos cis e trans (1:3) em baixos rendimentos (15-25%). A isomerização ocorreu, provavelmente, devido as condições alcalinas que foram utilizadas na hidrólise do produto de clivagem. É conhecido na literatura¹⁶ que estas condições favorecem a isomerização do carbono- α de aminoácidos (hidrogênio com elevado caráter ácido), ocasionado pelo efeito eletroatraente do ácido carboxílico e nitrogênio do carbamato.

Como o produto primário da clivagem é o isômero cis, a isomerização leva ao isômero trans de menor energia (termodinamicamente mais estável).

O trans diéster 38 foi caracterizado através dos seus espectros de RMN ^1H , I.V. e massa. O espectro de I.V. apresentou uma absorção em 1739cm^{-1} relativo ao estiramento da carbonila do éster e 1711cm^{-1} da carbonila do carbamato.

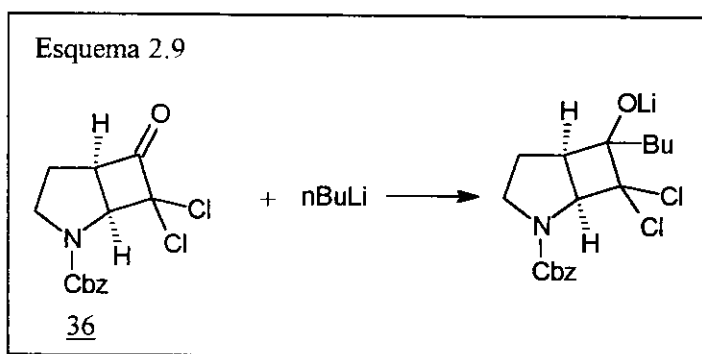
O espectro de RMN ^1H apresentou sinais duplicados devido a presença de rotâmeros. As metilas do éster apareceram como singletos em 3,74, 3,75, 3,81 e 3,82ppm. O hidrogênio em C-2 mostrou um dubleto em 4,75 e 4,81ppm ($J=1,1\text{Hz}$), sugerindo um ângulo diedro para os hidrogênios em C-2 e C-3 próximo a 90° , compatível com uma estereoquímica trans.

O espectro de massa apresentou os fragmentos moleculares m/z : 321(M^+), 262($\text{M}^+-\text{CO}_2\text{Me}$), 186($\text{M}^+-\text{PhCH}_2\text{OCO}$), 91(ion tropílio).

Devido ao baixo rendimento obtido nesta transformação, algumas modificações foram introduzidas visando tornar a reação mais estereosseletiva e mais eficiente nos rendimentos.

A reatividade do n-butilítio foi o primeiro aspecto a ser investigado, visando justificar os baixos rendimentos. Os alquilítios²⁷ são bastante reativos e além de reações de troca metal-halogênio, estes podem reagir como bases ou nucleófilos. A presença de vários grupos funcionais na molécula pode levar a uma competição de reações gerando produtos indesejáveis, que não levam ao enolacetato 37.

Um tipo de reação bastante comum de alquilítios são aquelas onde estes participam como nucleófilos devido a presença do carbono aniônico. Aldeídos e cetonas reagem com alquilítio dando produtos de adição à carbonila. No nosso sistema, a presença dos grupos eletronegativos em posição α -carbonila aumenta sensivelmente o caráter eletrofílico da cetona, podendo favorecer este tipo de reação(esquema 2.9).

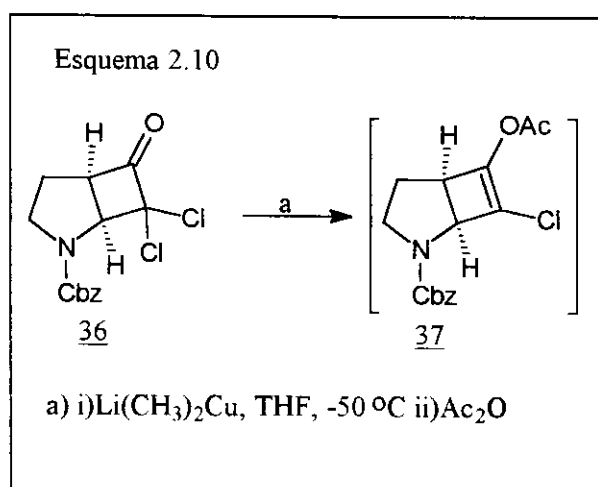


Outra possibilidade poderia ser a destruição do grupo de proteção benziloxicarbonil, sensível a organolítios.

Uma alternativa foi a substituição do n-butilítio pelo dimetilcuprato de lítio²⁵. Esta modificação teve como propósito melhorar a seletividade na formação do α -cloroenolato, e proporcionar um rendimento melhor na obtenção do diéster 38.

O dimetilcuprato de lítio tolera melhor a presença de certo grupos funcionais, como a carbonila da ciclobutanona 36, e o grupo de proteção do nitrogênio (benziloxicarbonil).

A reação do dimetilcuprato de lítio com a α,α -diclorociclobutanona 36, seguido da adição de anidrido acético produziu assim o enolacetato 37 (esquema 2.10). O enolacetato 37 foi, então, isolado através da extração com hexano/éter etílico 1:1 de uma solução tampão de $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$ (pH~8). A análise em camada fina demonstrou um produto majoritário ($R_f=0,5$; Hexano/acetato de etila 30%). Entretanto, tentativas de se analisar o enolacetato 37 através de RMN ^1H resultaram no produto de hidrólise, a α -clorociclobutanona. Provavelmente o tempo de permanência da amostra no tubo de ressonância foi responsável por esta hidrólise.



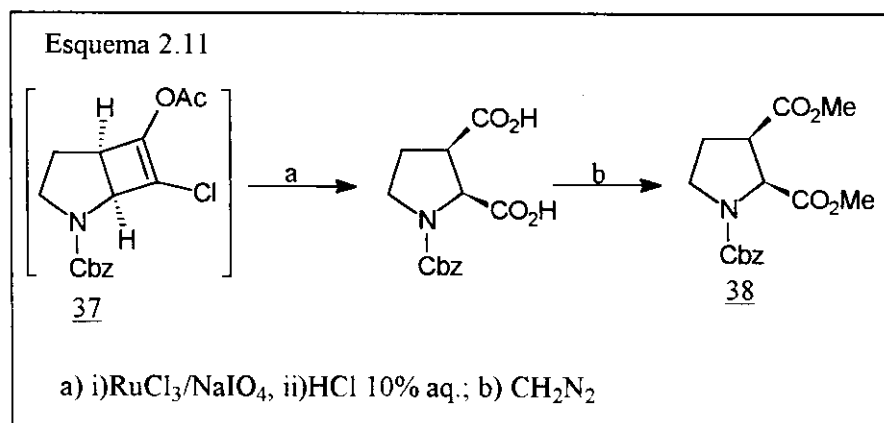
Devido a rápida hidrólise que o enolacetato 37 pode sofrer, este passou a ser utilizado imediatamente após o sua preparação. O enolacetato 37, bruto, foi então clivado oxidativamente utilizando-se o mesmo sistema oxidante Ru^{VIII} e NaIO_4 . A fim de se evitar a isomerização, a hidrólise foi realizada em meio ácido. O diácido, após isolamento foi obtido como um óleo escuro. Tentativas de recristalização em clorofórmio, entre outros solventes, fracassaram. Uma pequena quantidade de um sólido fino cristalizou, sendo caracterizado como o diácido.

O espectro no I.V. apresentou uma banda larga em 3449cm^{-1} referente ao estiramento O-H do diácido. A banda em 1751cm^{-1} representa o estiramento C=O do monômero do diácido. O sinal em 1654cm^{-1} refere-se ao estiramento carbonílico da forma dimerica do diácido. O carbamato mostrou uma banda em 1715cm^{-1} referente ao estiramento C=O.

O espectro de RMN ^1H em acetona deuterada mostrou sinais (duplicados pela presença de rotâmeros) em 4,61 e 4,66 ppm relativos a H-2 (d, $J=8,4\text{Hz}$). Esta constante de acoplamento demonstra retenção da configuração *cis*. O espectro de RMN ^{13}C apresentou rotâmeros e seus sinais apresentaram-se em 154,6 e 155,2 ppm referentes à carbonila do carbamato. As carbonilas do diácido apresentaram sinais em 171,6; 171,7; 171,8 e 171,9 ppm, estando estes dados de acordo com a literatura^{15,17}.

Tentou-se purificar o óleo remanescente através de cromatografia “flash”, utilizando metanol/clorofórmio/ácido acético como eluente. Porém não obtivemos bons resultados. O diácido foi portanto esterificado com diazometano para facilitar sua purificação.

O diéster 38 foi obtido em apenas 35% de rendimento a partir da α,α -diclorociclobutanona 36. A análise do produto demonstrou tratar-se apenas do isômero *cis*, demonstrando que as condições ácidas evitaram de fato a isomerização (esquema 2.11).



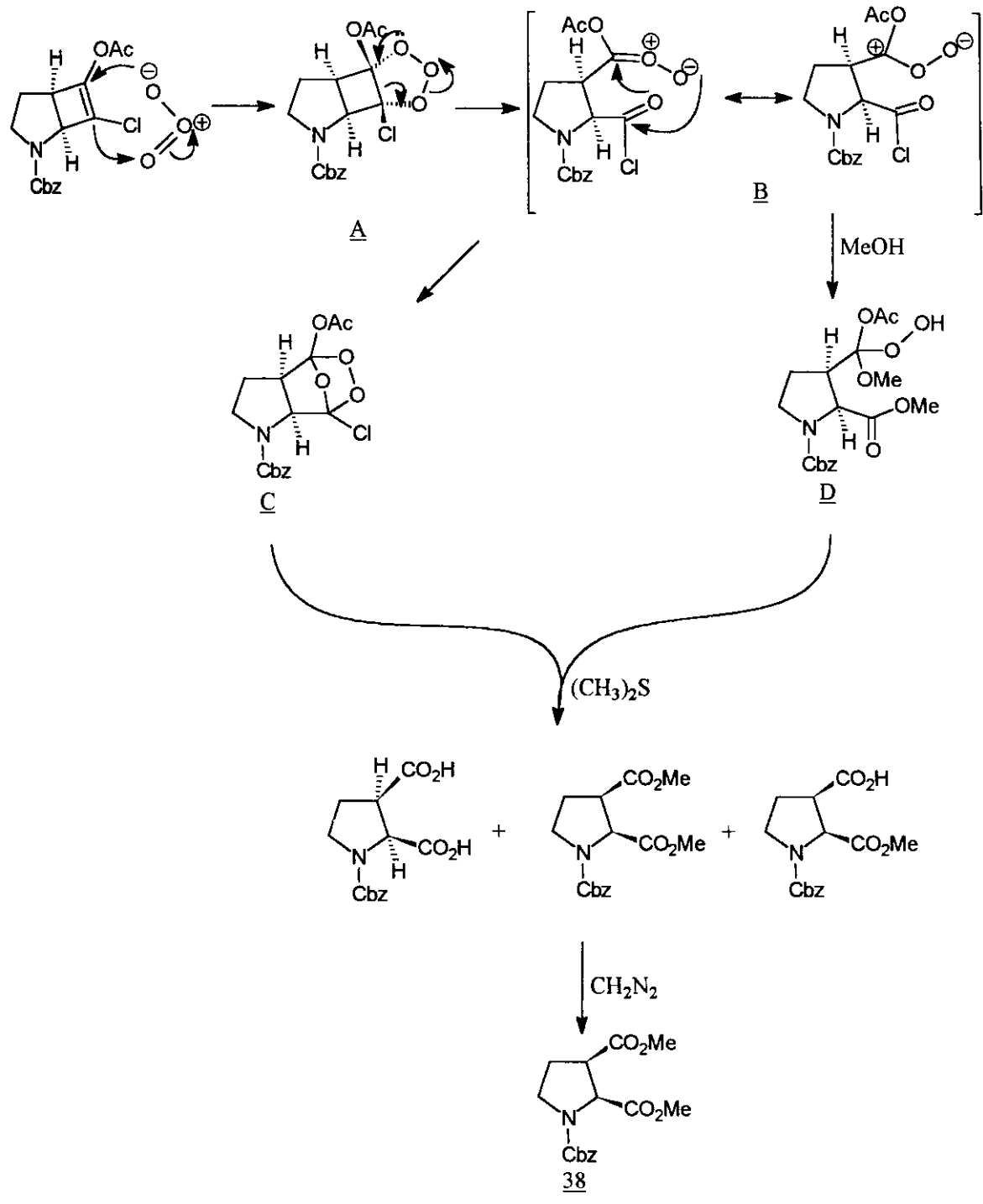
Estes resultados demonstram que a utilização do dimetilcuprato de lítio melhorou sensivelmente o rendimento global, porém ficou evidenciado que a clivagem oxidativa do enolacetato 37 também é uma etapa crítica na obtenção de melhores rendimentos.

Na tentativa de melhorar ainda mais o rendimento, procedemos a novas modificações, agora não mais a nível da formação do enolacetato 37, mas sim em sua clivagem. O agente oxidante Ru^{VIII} foi substituído pelo ozônio²⁹.

O ozônio além de ser um agente oxidante mais poderoso, reage rapidamente até mesmo com alcenos impedidos estericamente, podendo ser usado em condições reacionais anidras.

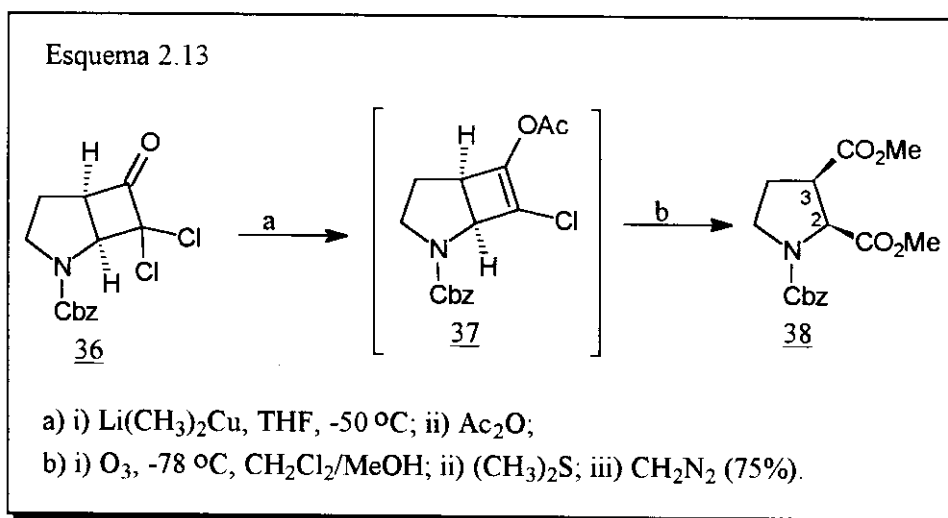
O ozônio reage³⁰ com alquenos via um mecanismo de adição 1,3 dipolar para formar o 1,2,3-trioxilano A, que sofre clivagem rapidamente levando ao intermediário B. Este último, sofre uma segunda reação dipolar formando o ozonídeo C. Na presença de solventes próticos como metanol B, pode levar ao hidroperóxido D. Ambos, C ou D, na presença de um agente redutor como dimetilsulfeto são reduzidos aos carbonílicos correspondentes (esquema 2.12).

Esquema 2.12



Na expectativa de um melhor desempenho a seguinte seqüência foi executada: a α,α -diclorociclobutanona **36** foi tratada com dimetilcuprato de lítio gerando o α -cloroenolato que sofreu acilação com anidrido acético. O enolacetato **37** foi isolado através da extração com hexano/éter etílico 1:1 de uma solução tampão de $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$ (pH~8). O enolacetato **37** foi oxidado com ozônio, e o diácido formado foi esterificado com diazometano produzindo o diéster **38** (75% de rendimento, $R_f=0,2$ Hexano/acetato de etila 30%)(esquema 2.13).

Além do substancial aumento no rendimento global, a oxidação com ozônio proporcionou uma fácil purificação do composto **38**, demonstrando ser esta uma reação bastante limpa, quando analisada em CCF, o que não se verificou na oxidação com rutênio.



A caracterização do *cis* diéster **38** foi realizada através de seus espectros de I.V., RMN ^1H , RMN ^{13}C e massa.

A análise do espectro no I.V. indicou a ausência da ciclobutanona (1809 cm^{-1}) e o surgimento de um sinal intenso em 1743 cm^{-1} referente ao estiramento carbonílico do éster e também à presença de outro sinal intenso em 1709 cm^{-1} da carbonila do carbamato.

O espectro de RMN ^1H apresentou seus sinais duplicados devido a presença de rotâmeros. Os hidrogênios metílicos do grupo éster apresentam-se como singletos na região de 3,60 e 3,70 ppm. O hidrogênio em C-2 apareceu como um dubleto a 4,58 e 4,67 ppm, apresentando uma constante de acoplamento de 7,8Hz. Esta constante de acoplamento evidencia que os hidrogênios em C-2 e C-3 estão em um ângulo diedro próximo de 0° , determinando uma estereoquímica *cis* entre estes hidrogênios. Os sinais em 5,1 e 7,3ppm aparecem como multipletos e representam os hidrogênios do grupo benziloxicarbonil, o metileno e o anel aromático respectivamente.

O espectro de RMN ^{13}C apresentou os sinais em 170 e 154ppm pertencentes às carbonilas do diéster e do carbamato respectivamente. Os carbonos metílicos do éster apresentaram sinais em 52,3 e 52,4 ppm.

O espectro de massas apresenta os seguintes fragmentos iônicos: m/z 321 (M^+), 262 ($\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{Me}$), 186 ($\text{M}^+ - \text{PhCH}_2\text{OCO}$), 119 ($\text{M}^+ - 2\text{CO}_2\text{Me}$), 91 (ion tropílio), 65 (Ph).

Estes dados estão de acordo com a literatura^{16,31} confirmando a estrutura proposta.

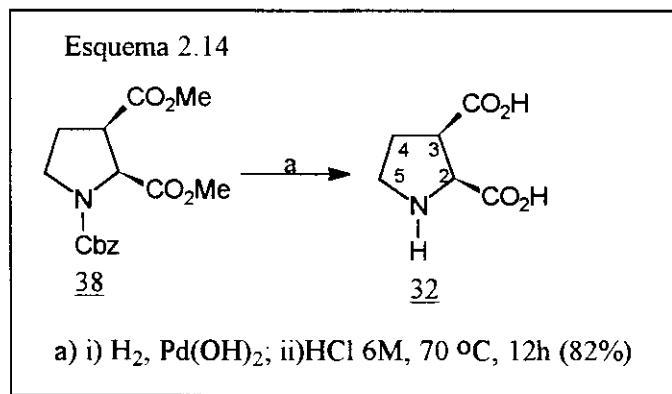
Uma vez caracterizado o diéster 38, a última etapa na rota sintética da cis-2,3-dicarboxi-pirrolidina 32, foi a remoção dos grupos de proteção do nitrogênio e do ácido. Na síntese da trans 2,3-dicarboxi-pirrolidina 32 será investigada a isomerização em C-2 em condições alcalinas e posterior desproteção dos grupos funcionais.

2.1.3- SÍNTESE DA CIS-2,3-DICARBOXI-PIRROLIDINA 32

Várias condições reacionais são descritas na literatura para a remoção dos grupos de proteção benziloxycarbonil e metiléster, visando a obtenção de aminoácidos. Entre estes métodos está uma hidrólise total em meio alcalino, removendo os dois grupos de proteção em uma única etapa³². Um segundo método consiste na remoção do grupo benziloxycarbonil através da reação de hidrogenólise e em seguida uma hidrólise ácida do éster^{16,17}. O método utilizado foi o segundo, porque não emprega condições alcalinas que poderia levar a uma isomerização do aminoácido.

A hidrogenólise foi realizada em metanol e $\text{Pd}(\text{OH})_2$ sob atmosfera de hidrogênio à baixa pressão. Após 12 horas constatou-se o consumo total do material de partida(CCF). Após remoção do carvão, o óleo resultante foi submetido à aquecimento a 70 °C por 12 horas em ácido clorídrico 6M.

A mistura reacional foi purificada em resina de troca iônica (Dowex 50x8 200-400mesh) fornecendo a cis-2,3-dicarboxi-pirrolidina 32 (82% de rendimento) como um óleo incolor. Tentativas de recristalização deste óleo em metanol, água e acetona foram frustradas. Relatos na literatura também demonstram esta dificuldade¹⁴ (esquema 2.14). Portanto a análise do produto foi feita com este na forma de óleo.



A caracterização da *cis*-2,3-dicarboxi-pirrolidina 32 foi realizada através de seus espectros de RMN ^1H , RMN ^{13}C , massa e I.V. .

A análise do espectro de RMN ^1H (D_2O), apresentou os seguintes sinais:

Próton	Multiplicidade	$\delta(\text{ppm})$
2H- H_2	m	2,08-2,24
3H- H_3 e H_5	m	3,22-3,48
1H- H_2	d	4,12 ($J=7\text{Hz}$)

O dublete em 4,12ppm referente ao hidrogênio em C-2 possui uma constante de acoplamento igual a 7Hz, evidenciando a retenção da estereoquímica *cis* após hidrólise.

O espectro de RMN ^{13}C apresentou os seguintes dados:

Carbono	$\delta(\text{ppm})$
CH_2	28,8
CH_2	44,0
CH	45,7
CH	63,9
C=O	171,7
C=O	176,6

O espectro de RMN ^{13}C apresentou sinais com deslocamentos em pleno acordo com os obtidos para o diéster 38, ocorrendo apenas uma simplificação no espectro devido a ausência dos rotâmeros causados pela eliminação do benziloxicarbonil.

O espectro no I.V. apresentou em 3425cm^{-1} uma banda larga referente ao estiramento O-H e N-H do aminoácido, e em 1621cm^{-1} apareceram bandas sobrepostas correspondendo ao estiramento C=O do carboxilato e 1405cm^{-1} relativo ao estiramento C-N.

O espectro de massa apresentou os seguintes fragmentos iônicos m/z : 141($M^+ - H_2O$), 111($M^+ - CO_2$), 97(141- CO_2), 71($M^+ - 2(CO_2)$), 69(anel pirrolidínico). Os dados espectroscópicos do aminoácido 32 estão de acordo com os dados da literatura^{31,14,17}.

Os espectros de RMN 1H e RMN ^{13}C apresentaram-se contaminados com os solventes etanol e acetona.

O espectro de RMN 1H em água deuterada sem contaminações com solventes, foi surpreendente, apresentando uma péssima resolução dos sinais(alargados). Embora a maioria dos sinais se apresentasse na forma multipletos, o dubleto em 4,12ppm também mostrou-se como um singlete largo, impedindo a determinação da constante de acoplamento neste espectro. Isto pode significar que a água deuterada não é um bom solvente para estes aminoácidos. Na realidade alguns relatos da literatura³³ citam o uso de ácido acético deuterado como solvente para aminoácidos, obtendo-se bons resultados e deslocamentos químicos próximos aos obtidos em clorofórmio deuterado, (facilitando a comparação com a literatura). Também a utilização de água deuterada com hidróxido de potássio deuterado é mencionado³².

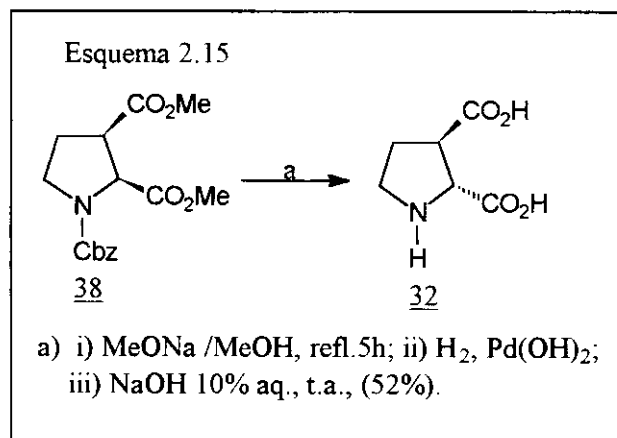
Devido a não disponibilidade de ácido acético deuterado e hidróxido de potássio deuterado em nossos laboratórios, os espectros de RMN 1H neste solvente não puderam ser efetuados.

2.1.4- SÍNTESE DA TRANS-2,3-DICARBOXI-PIRROLIDINA 32

A trans-2,3-dicarboxi-pirrolidina 32 foi obtida através da isomerização de C-2 do diéster cis-38. A presença do hidrogênio alfa à carbonila do éster e do nitrogênio do carbamato, eleva sua acidez. A desprotonação em meio básico deveria deslocar o equilíbrio para o isômero termodinamicamente mais estável (trans).

Para efetuar esta isomerização o diéster cis-38, foi mantido em refluxo pelo período de 5 horas em condições alcalinas (metóxido de sódio em metanol), condições estas semelhantes àquelas utilizadas por Yoo¹⁹.

Após a isomerização, foi realizada a remoção dos grupos de proteção para levar ao aminoácido livre. A desproteção do grupo benziloxicarbonil foi realizada através da reação de hidrogenólise (em metanol e hidróxido de paládio) sob atmosfera de hidrogênio a baixa pressão. Em seguida o éster foi removido através de hidrólise básica³. Após purificação em resina de troca iônica obteve-se a trans-2,3-dicarboxi-pirrolidina 32 (52% de rendimento) como um óleo amarelado (esquema 2.15). A recristalização deste óleo nos solventes etanol, água e acetona não trouxe bons resultados, sendo então caracterizado na forma de óleo.



Através do espectro de RMN ¹H constatamos a isomerização em C-2. O isômero cis-32, que apresentava um dubleto em 4,12ppm (J=7Hz) desapareceu, surgiu um outro dubleto em 3,93ppm (J=5,2Hz) referente a H-C(2). Esta nova constante de acoplamento sugeriu uma relação trans entre os hidrogênios em C-2 e C-3 que agora devem apresentar um ângulo diédrico mais próximo de 90°.

O espectro de RMN ¹H forneceu os seguintes dados:

Próton	Multiplicidade	δ(ppm)
1H- H ₄	m	1,92-2,08
1H- H ₄	m	2,12-2,22
3H- H ₃ e H ₅	m	3,11-3,49
1H- H ₂	d	3,93 (J=5,2Hz)

O espectro de RMN ¹³C apresentou os seguintes sinais:

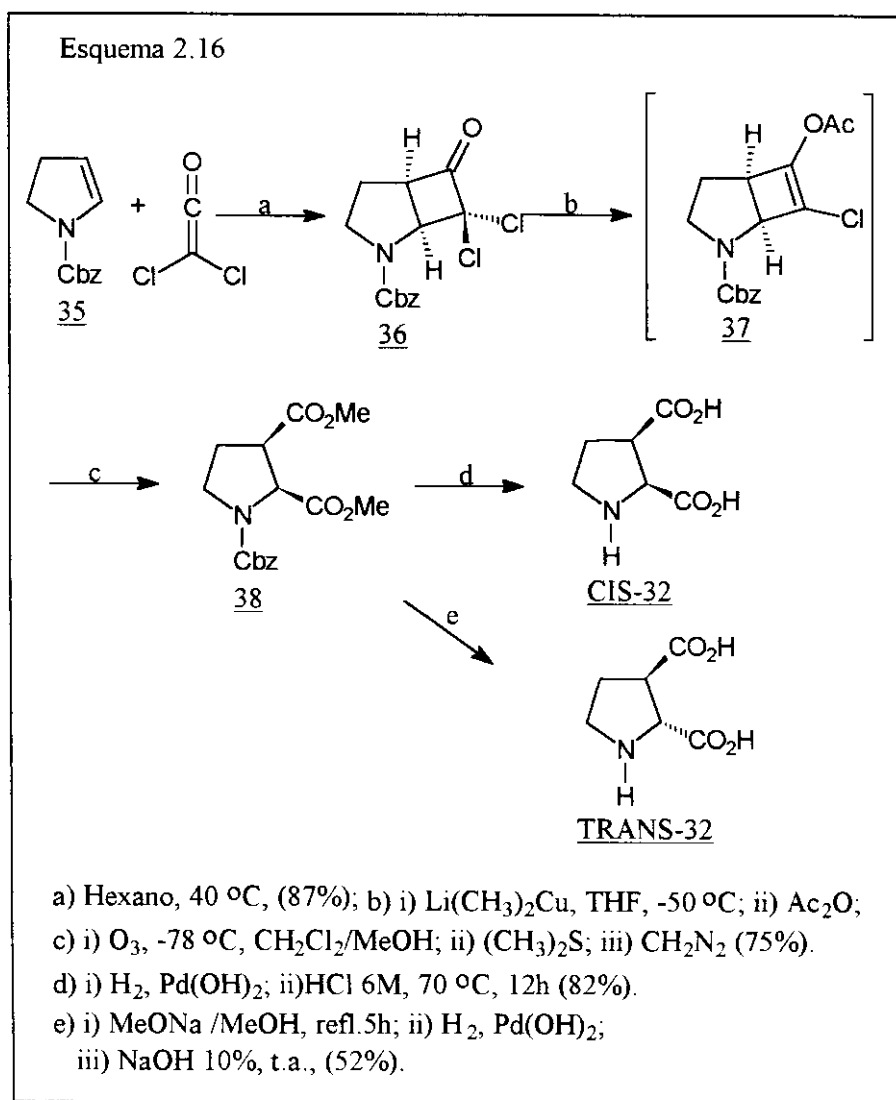
Carbono	δ(ppm)
CH ₂	28,8
CH ₂	43,8
CH	47,3
CH	64,5
C=O	173
C=O	179

Podemos perceber que os dados referentes ao espectro de RMN ¹³C do isômero trans apresenta sinais em concordância com os do isômero cis, com as carbonilas mostrando-se em campo mais baixo.

O espectro de massa apresentou os seguintes íons de m/z: 177(M⁺ + H₂O), 141(M⁺ - H₂O), 171(M⁺ - CO₂).

Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C apresentaram-se contaminados com acetona e etanol, e novamente quando estes solventes foram eliminados e o espectro de RMN ^1H foi realizado mais uma vez, ocorreu um alargamento dos sinais impedindo a determinação da constante de acoplamento entre os hidrogênios em C-2 e C-3 neste espectro. Entretanto, estes sinais apresentaram os mesmos deslocamentos, estando de acordo com os dados da literatura^{14,17,34}.

Apresentamos a rota sintética para a obtenção da cis e trans-2,3-dicarboxi-pirrolidina 32 a partir do enecarbamato enodocíclico 35, envolvendo apenas quatro etapas e com bons rendimentos (54% de rendimento global até o momento para o cis, 34% de rendimento global para o trans) que podem ainda ser otimizados (esquema 2.16).



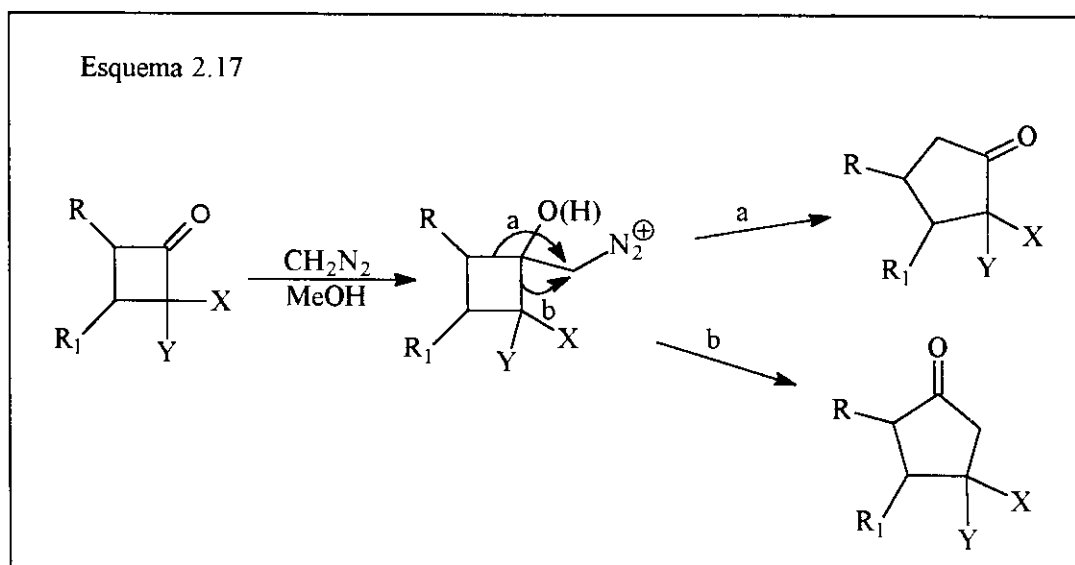
2.2- SÍNTESE DA 2-CARBOXI-3-CARBOXIMETIL-PIRROLIDINA 33

Em analogia à síntese dos derivados do ácido aspártico partimos para a síntese de análogos cíclicos do ácido glutâmico, a qual envolveu uma pequena modificação na metodologia. A α,α -diclorociclobutanona 36 deveria ser inicialmente convertida na α,α -diclorociclopentanona 39 através de uma cicloexpansão regioseletiva com diazometano, antes da clivagem oxidativa.

2.2.1- SÍNTESE DA N-(BENZILOXICARBONIL)-6,6-DICLORO-2-AZABICICLO-[3.3.0]-OCTAN-7-ONA 39

O procedimento utilizado na obtenção da α,α -diclorociclopentanona 39 envolveu uma cicloexpansão regioseletiva da α,α -diclorociclobutanona 36 através da reação com diazometano³⁵. Sendo a α,α -diclorociclopentanona 39 um importante intermediário para a construção dos análogos cíclicos do ácido glutâmico.

Nas reações de cicloexpansão de ciclobutanonas alquil-substituídas com diazometano, o grau de regioseletividade na migração da ligação C-C é dependente dos substituintes (X,Y) α -carbonílicos (esquema 2.17).



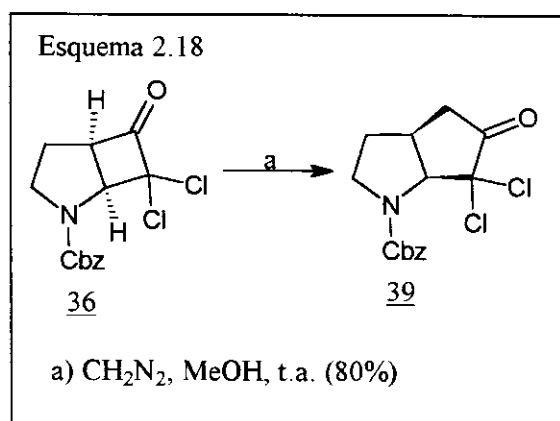
Para substituintes $\text{X}=\text{Y}=\text{H}$, a reação não apresenta regioseletividade na migração, enquanto que na presença de substituintes α -cloro ($\text{X}=\text{Y}=\text{Cl}$ ou $\text{X},\text{Y}=\text{H},\text{Cl}$) a migração é altamente regioseletiva, havendo um aumento na velocidade da reação favorecendo o caminho a. Este fenômeno é evidenciado pelo efeito eletrônico ocasionado pela introdução de substituintes eletronegativos

adjacentes à carbonila, que leva a migração da ligação C-C mais rica em elétrons.

A α,α -diclorociclobutanona 36 é o substrato adequado para a inserção regioseletiva do grupo metileno em C-3, definindo o esqueleto carbônico necessário, que após transformações dos grupos funcionais levará ao aminoácido desejado.

A conversão de 36 em 39 foi feita da seguinte forma: numa solução da α,α -diclorociclobutanona 36, a temperatura ambiente, foi adicionado 1,5 equivalentes de uma solução etílica de diazometano ($\sim 0,2M$) e metanol (3% v/v), seguido de isolamento reacional após 45 minutos. A análise em CCF demonstrou o consumo do material de partida e o surgimento de um composto mais polar, caracterizado como a α,α -diclorociclopentanona 39 (80% de rendimento).

Constatamos que estas condições são críticas para a obtenção de 39 em bons rendimentos. Isto se deve ao fato de que excesso de diazometano superior a 2 equivalentes e concentrações de metanol acima de 3% v/v, levam a uma queda drástica do rendimento, provavelmente devido a reações de adição de diazometano à carbonila da α,α -diclorociclopentanona 39 (evidenciado pelo desaparecimento da banda carbonílica no espectro de I.V.). Isto reflete a grande reatividade da α,α -diclorociclopentanona 39, o que ficou demonstrado pela sua instabilidade durante cromatografia em sílica-gel, alumina neutra e alumina básica. Assim sendo, o composto 39 foi utilizado em reações posteriores sem purificação prévia (esquema 2.18).



A caracterização da α,α -diclorociclopentanona 39, foi realizada através de seus espectros de RMN 1H , ^{13}C , I.V. e massa.

O espectro de I.V. nos forneceu as seguintes informações:

- Ausência do estiramento C=O da α,α -diclorociclobutanona 36 em 1809 cm^{-1} e o surgimento de uma banda intensa em 1769 cm^{-1} referente ao estiramento C=O da α,α -diclorociclopentanona 39 e uma banda intensa em 1712 cm^{-1} referente à carbonila do carbamato.

A comparação entre os espectros de RMN ^1H a 295K e 333K, demonstram a presença de rotâmeros com sinais duplicados no espectro a 295K, mas que coalescem no espectro a 333K.

No espectro de próton a 333K podemos verificar a inserção do metileno em 2,41-2,48ppm (1H, dd, $J=3$ e 19 Hz) e 2,82-2,93ppm (1H, dd, $J=9,2$ e 19 Hz). O hidrogênio em C-2 apareceu como um dubleto em 4,81ppm ($J=8,1\text{Hz}$).

O espectro de RMN ^{13}C apresenta em 200,9ppm sinal referente à carbonila da α,α -diclorociclopentanona como principal característica.

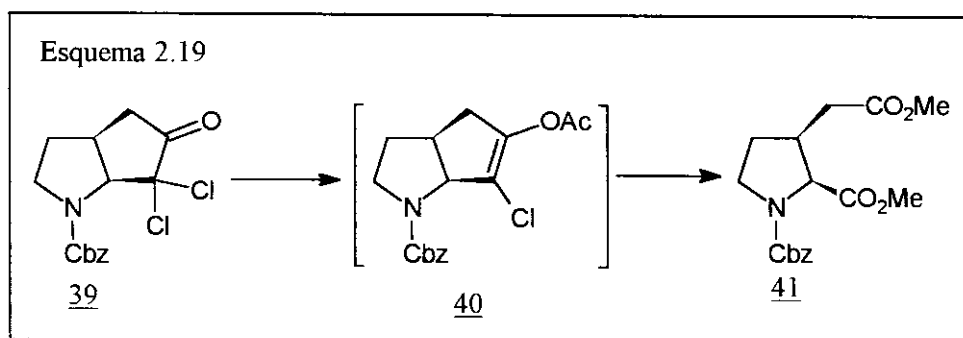
O espectro de massa apresentou os seguintes fragmentos iônicos m/z : 329 ($M+1$), 126 ($\text{CH}_2\text{COCl}_2^+$), 91 (PhCH_2^+), 28 (C=O).

Confirmada a síntese da α,α -diclorociclopentanona 39, partimos para a sua clivagem oxidativa.

2.2.2 SÍNTESE DA CIS-DIMETIL-N-(BENZOILCARBONIL)-2-CARBOXI-3-CARBOXIMETIL-PIRROLIDINA 41

A obtenção do diéster 41 a partir da α,α -diclorociclopentanona 39 envolveu a mesma metodologia descrita para os derivados aspárticos.

Portanto preparamos o enolacetato 40 e posteriormente os dicarboxilados mediante clivagem oxidativa (esquema 2.19).

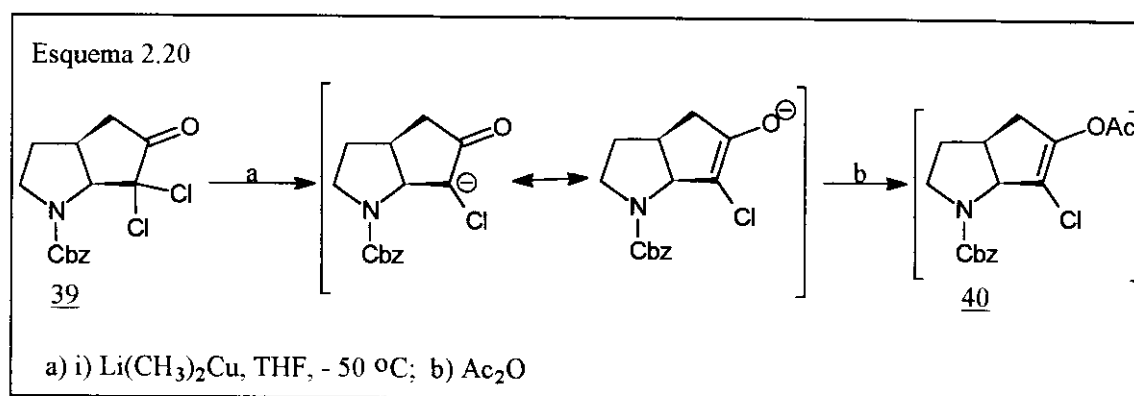


Em ensaios preliminares, a obtenção do diéster 41 através da metodologia que utiliza *n*-butilítio para a geração do α -cloroenolato, e do sistema oxidante $\text{Ru}^{\text{VIII}}/\text{NaIO}_4$ para a clivagem oxidativa, mostrou-se também bastante sensível às condições de reação, levando a rendimentos inferiores a 20% do diéster 41.

Partimos então para o método em que obtivemos os melhores resultados, utilizando dimetilcuprato de lítio na formação do α -cloroenolato e ozônio na clivagem oxidativa.

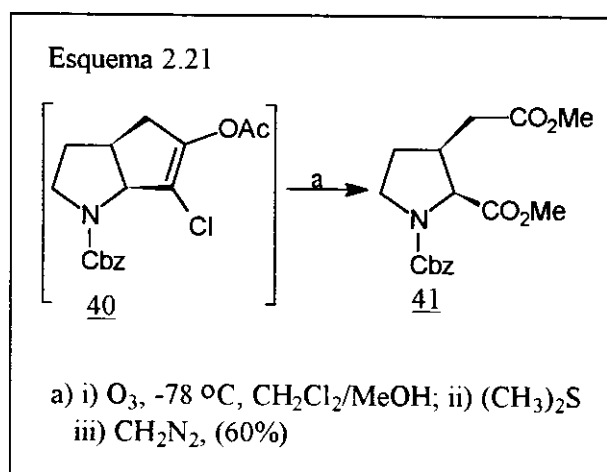
A α,α -diclorociclopentanona 39 foi tratada com uma solução de dimetilcuprato de lítio em THF a $-50\text{ }^\circ\text{C}$. Em seguida, o α -cloroenolato gerado foi acilado com anidrido acético. O enolacetato 40 isolado após extração com

hexano/éter etílico 1:1 e $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$ (pH~8) foi utilizado na próxima etapa sem purificação prévia (esquema 2.20).



A clivagem oxidativa do enolacetato 40 na presença de ozônio produziu o diácido que foi esterificado com diazometano para facilitar sua purificação.

O diéster 41 foi obtido após purificação em 60% de rendimento a partir da α,α -diclorociclopentanona 39 (esquema 2.21).



A análise do espectro de I.V. apresentou uma banda em 1740 cm^{-1} característica do estiramento $\text{C}=\text{O}$ de éster, e outra absorção em 1213 cm^{-1} , referente ao estiramento $\text{C}-\text{O}-\text{C}$, em 1706 cm^{-1} apareceu a absorção do carbamato. Igualmente, verificamos o desaparecimento do estiramento $\text{C}=\text{O}$ carbonílico da α,α -diclorociclopentanona 39 em 1769 cm^{-1} .

O espectro de RMN ^1H apresentou sinais duplicados devido a presença de rotâmeros. Portanto, os ésteres metílicos estão distribuídos como vários singletos com deslocamentos entre 3,57 e 3,77 ppm. O hidrogênio em C-2 mostrou-se como um tripleto em 4,48ppm devido à sobreposição dos dubletos pertencentes a cada rotâmero, apresentando uma constante de acoplamento igual a 8,7 Hz. Este valor da constante, mostra a retenção de configuração para

o hidrogênio em C-2 após a clivagem oxidativa, o que indica um ângulo diedro próximo de 0° e uma estereoquímica cis entre os hidrogênios em C-2 e C-3.

No espectro de RMN ^{13}C os sinais estão duplicados devido a presença de rotâmeros. Os carbonos metílicos do éster apareceram em 51,82 e 51,91 ppm e as carbonilas, em 154,1 e 154,72 ppm pertencentes ao carbamato e 171,6 e 171,7 ppm pertencentes ao éster.

O espectro de massa apresentou os seguintes fragmentos iônicos m/z : 335(M^+), 276($\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{Me}$), 232($\text{M}^+ - \text{CO}_2$), 200($\text{M}^+ - \text{PhCH}_2\text{OCO}$), 91(PhCH_2^+), 65(Ph).

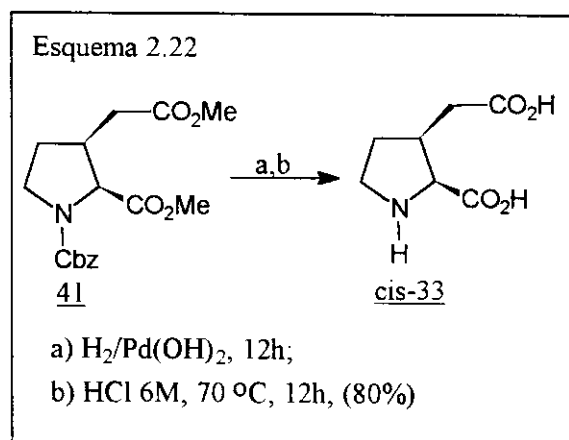
Confirmada a síntese do diéster 38 partimos para a última etapa na rota sintética da cis e trans-2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina-33. Esta etapa consiste em apenas remover os grupos de proteção para a obtenção do cis. Isomerização em C-2 é necessária para a obtenção do trans.

2.2.3- SÍNTESE DA CIS-2-CARBOXI-3-CARBOXIMETIL-PIRROLIDINA-33.

A estratégia utilizada com sucesso na preparação de 32 também foi praticada aqui.

A cis-2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina-33 foi obtida a partir do diéster 41 através da remoção dos grupos de proteção. O grupo de proteção do nitrogênio (benziloxycarbonil) foi removido pela reação de hidrogenólise, em uma solução de metanol na presença de hidróxido de paládio sob atmosfera de nitrogênio.

O grupo de proteção éster, foi removido pela hidrólise em uma solução aquosa 6M de HCl a 70°C durante 12h. O produto hidrolisado foi purificado em coluna de troca iônica, onde obteve-se a cis-2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina-33 (80% de rendimento) como um óleo levemente amarelado (esquema 2.22).



O aminoácido cis 33 foi caracterizado através de seus espectros de RMN ^1H , ^{13}C e massa, I.V.

O espectro de RMN ^1H apresentou os seguintes dados:		
Próton	Multiplicidade	$\delta(\text{ppm})$
1H- H_4	m	1,62-1,66
1H- $\text{H}-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$	dd	1,90($J=11,5$ e $15,0\text{Hz}$)
1H- H_4	m	2,00-2,11
1H- $\text{H}-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$	dd	2,27($J=4,4$ e $15,0\text{Hz}$)
1H- H_3	m	2,69-2,77
1H- H_5	m	3,10-3,19
1H- H_2	m	3,31-3,47
1H- H_2	d	3,97($J=8,1\text{Hz}$)

Podemos observar que o hidrogênio em C-2 apareceu em 3,97ppm como um dubleto ($J=8,1\text{Hz}$), demonstrando retenção da estereoquímica cis, a partir do diéster 41. Um aspecto importante que podemos verificar foi o desaparecimento dos rotâmeros, o que simplificou o espectro após a remoção do benziloxicarbonil.

O espectro de RMN ^{13}C apresentou os seguintes sinais:

Carbono	$\delta(\text{ppm})$
CH_2	28,8
CH_2	36,8
CH	37
CH_2	43,9
CH	63,9

O espectro de RMN ^{13}C não apresentaram os sinais referentes às carbonilas devido a pequena quantidade de amostra utilizada na análise aliado ao curto período de acumulações do espectro. Mas podemos perceber que os sinais obtidos estão de acordo com aqueles obtidos para o diéster 41, mostrando-se também um espectro mais simples devido a ausência dos rotâmeros obtidos no espectro do diéster 41.

O espectro de I.V. apresentou uma banda larga em 1627 cm^{-1} devido ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ do carboxilato e em 3434 cm^{-1} uma banda larga devido ao

estiramento NH_2^+ e OH. O estiramento C-N apresentou uma banda em 1402 cm^{-1} .

O espectro de massa apresentou os seguintes fragmentos iônicos m/z: $155(\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O})$, $128(\text{M}^+ - \text{CO}_2)$, $111(\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CO}_2)$, $82(\text{C}_5\text{H}_8\text{N})$, 69 (anel pirrolidínico).

Confirmada a síntese da cis-2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina, partimos para a obtenção do isômero trans. Este pode ser obtido a partir da isomerização em C-2 do isômero cis utilizando condições alcalinas. A importância em se obter ambos os isômeros (cis e trans) seletivamente deve-se principalmente a estudos de atividade biológica. Cada isômero do aminoácido apresenta uma interação característica com o sítio ativo, podendo um dos isômeros ser ativo biologicamente e o outro totalmente inativo.

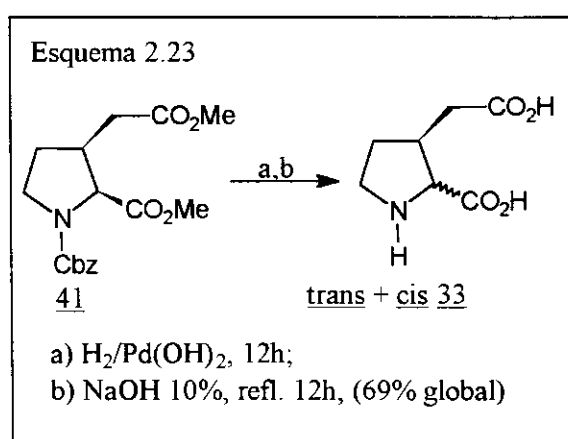
2.2.4-SÍNTESE DA TRANS-2-CARBOXI-3-CARBOXIMETIL-PIRROLIDINA- 33.

A síntese da trans-2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina-33 foi realizada através do diéster 41 em duas etapas.

A primeira etapa consistiu na remoção do benziloxicarbonil, através de uma reação de hidrogenólise com hidróxido de paládio e atmosfera de hidrogênio, utilizando metanol como solvente.

Na segunda etapa foi realizada uma hidrólise alcalina com hidróxido de sódio 10% sob refluxo pelo período de 12 horas. Esta hidrólise teve a finalidade de hidrolisar o éster e também isomerizar o aminoácido cis, ao trans.

A purificação do bruto reacional em resina de troca iônica levou a obtenção de uma mistura da cis e trans-2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina-33 (69% de rendimento), como um óleo incolor (esquema 2.23).



Não foi possível a separação dos isômeros cis e trans através da cromatografia de troca iônica, sendo portanto caracterizados como mistura. Os isômeros foram atribuídos pelo deslocamento diferenciado do hidrogênio em C-2, e pelas suas constantes de acoplamento diferentes.

A proporção entre os isômeros cis e trans não foi determinada porque o isômero trans mostrou-se parcialmente sobreposto ao sinal da água (4,72 ppm). O hidrogênio em C-2 para o isômero cis apresentou-se como um dubleto em 3,92ppm com uma constante de acoplamento igual a 7,6Hz. Esta constante demonstrou que o ângulo diedro para os hidrogênios em C-2 e C-3 está próximo de 0°, evidenciando a retenção da configuração, o que foi demonstrado anteriormente na síntese do cis 33.

O espectro do outro isômero, o trans apresentou em 4,83ppm um dubleto ($J=3,7\text{Hz}$), demonstrando um ângulo diedro próximo de 90°, o que levaria a uma geometria trans com uma constante de acoplamento igual 3,7 Hz, estando estes dados de acordo com a literatura¹⁴.

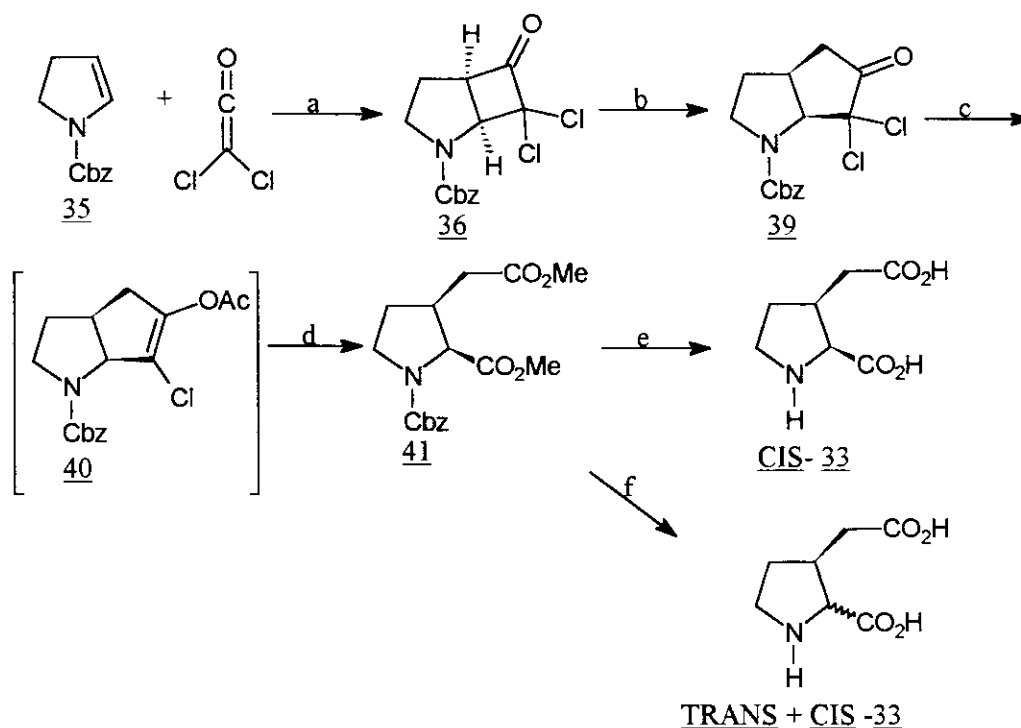
O espectro de I.V. apresentou uma banda larga em $3500\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$ devido ao estiramento OH e NH_2^+ do aminoácido e em 1581 cm^{-1} outra banda larga devido a presença do carboxilato e em 1446 cm^{-1} estiramento C-N.

O espectro de massa apresentou as seguintes fragmentações iônicas m/z : 111($\text{M}^+-\text{CH}_2\text{CO}_2$), 82($\text{C}_5\text{H}_8\text{N}$), 69(anel pirrolidínico).

Estes resultados demonstram que o aminoácido livre, totalmente desprotegido mostra uma pequena preferência para a configuração trans¹⁴, enquanto que o aminoácido protegido assume predominantemente a configuração trans, como demonstrado por Yoo¹⁹ na obtenção da trans-2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina. Embora ainda não tenhamos utilizado as condições alcalinas (metóxido de sódio/metanol) para a epimerização do diéster 41 ainda protegido acreditamos que estas condições devam levar ao isômero trans majoritariamente, como nos resultados apresentados por Yoo¹⁹.

Apresentamos a seguir, a rota sintética da cis e trans 2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina-33, partindo do encarbamato endocíclico 36, envolvendo cinco etapas com bons rendimentos (33% de rendimento global para o isômero cis, e 29% para a mistura dos isômeros cis+trans). Alguns resultados ainda podem ser melhor trabalhados, como a isomerização e a purificação dos aminoácidos (esquema 2.24).

Esquema 2.24



- a) Hexano, 40 °C, 87%; b) CH_2N_2 , MeOH , t.a., (80%);
 c) i) $\text{Li}(\text{CH}_3)_2\text{Cu}$, THF , - 50 °C; ii) Ac_2O ;
 d) i) O_3 , -78 °C, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$; ii) $(\text{CH}_3)_2\text{S}$; iii) CH_2N_2 , (60%);
 e) i) $\text{H}_2/\text{Pd}(\text{OH})_2$, MeOH , 12h; ii) HCl 6M, 70 °C, 12h, (80%);
 f) i) $\text{H}_2/\text{Pd}(\text{OH})_2$, 12h; ii) NaOH 10%, refl. 12h, (69%)

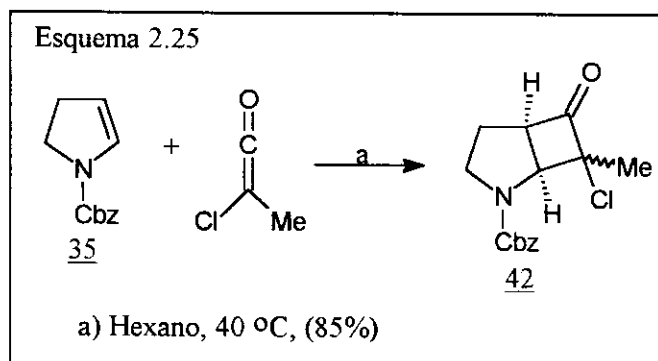
2.3- SÍNTESE DA CIS-METIL-N-(BENZILOXICARBONIL)-2-ACETIL-3-CARBOXI-PIRROLIDINA 34.

Com o intuito de demonstrar a versatilidade da metodologia empregada na obtenção dos aminoácidos, propusemo-nos a sintetizar a cis-metil-N-(Cbz)-2-acetil-3-carboxipirrolidina 34, um β -aminoéster que possui uma carbonila cetônica na posição C-2 do anel pirrolidinico, podendo esta substância ser bastante útil em diversas transformações químicas. Isto demonstraria que a metodologia poderia ser aplicada não só a dialocetenos, mas também para outros halocetenos substituídos, gerando uma variedade enorme de compostos α -substituídos, que poderiam levar a estruturas mais complexas.

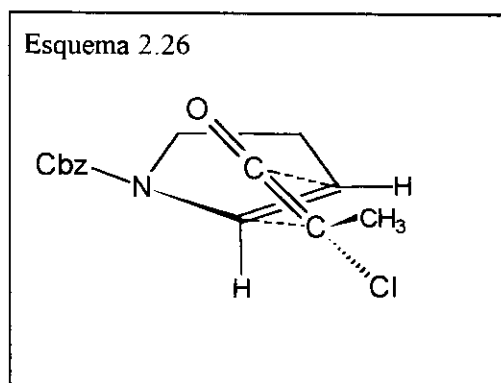
A síntese do composto 34 envolveu uma modificação na metodologia aplicada aos aminoácidos. Foi utilizado clorometilceteno na reação de cicloadição [2+2] com o enecarbamato 35, ao invés do dicloroceteno.

2.3.1- SÍNTESE DA N-(BENZOILCARBONIL)-7,7-CLOROMETIL-2-AZA-BICICLO-[3.2.0]-HEPTAN-6-ONA 42.

A reação de cicloadição do tipo [2+2] do enecarbamato 35 com clorometilceteno em hexano a 40 °C forneceu a α,α -clorometilciclobutanona 42 endo e exo em 85% de rendimento, após isolamento e purificação (esquema 2.25).

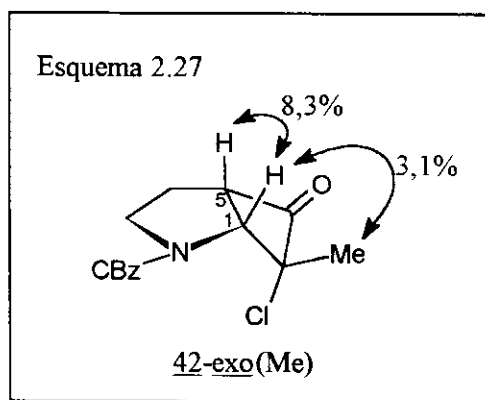


As endo e exo α,α -clorometilciclobutanona 42 foram separadas por cromatografia “flash” fornecendo uma proporção de 5:1 da endo (metila voltada para a face côncava do biciclo) para a exo (metila voltada para a face externa do biciclo). Isto ocorre porque o ceteno aproxima-se ortogonalmente ao alceno. Portanto os substituintes do ceteno devem assumir uma orientação que facilite esta aproximação. Os substituintes do ceteno mais volumosos levam a uma configuração endo do substituinte, porque posicionam o substituinte num ambiente menos congestionado. Como a metila apresenta um volume espacial maior que o cloro, o cicloaduto predominante é o que apresenta a metila em orientação endo (esquema 2.26).



Relatos da literatura³⁶ demonstram que os cicloadutos formados na cicloadição de clorometilceteno com ciclopentadieno levam à orientação da metila endo, em 4:1 com relação a metila exo.

A diferenciação entre os isômeros endo e exo foi obtida a partir de experimentos de NOE-diferencial. A irradiação em 4,6ppm, referente ao hidrogênio em C-1 do isômero minoritário, proporcionou um efeito NOE positivo de 8,3%, no sinal em 4,0ppm (hidrogênio em C-5), além de um efeito NOE positivo de 3,1% no sinal em 1,7ppm referente aos hidrogênios da metila. Tal efeito não foi verificado no isômero majoritário. Estes resultados nos indicam que o isômero majoritário é a α,α -clorometilciclobutanona 42 endo(Me) e o isômero minoritário exo(Me) (esquema 2.27).



A α,α -clorometilciclobutanona 42 endo, isômero majoritário, foi caracterizada através de seus espectros de RMN ^1H , ^{13}C , I.V. e massa.

O espectro de I.V. apresentou duas bandas intensas em 1794 cm^{-1} referente ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ da α,α -clorometilciclobutanona e 1707 cm^{-1} relativo ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ do carbamato.

O espectro de RMN ^1H indicou os sinais duplicados devido a presença de rotâmeros, que são, 1,37 e 1,47ppm referente a metila e os dubletos em 4,64 e 4,70ppm $J=7,4\text{Hz}$ referentes ao hidrogênio em C-1.

O espectro de RMN ^{13}C apresentou o sinal da metila em 16,9ppm e as carbonilas em 204,8ppm da cetona e em 154,3 a do carbamato.

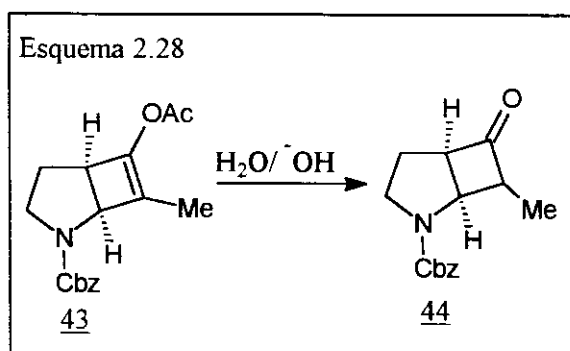
O espectro de massa apresentou os seguintes fragmentos iônicos m/z : 293(M^+), 159($\text{M}^+ - \text{PhCH}_2\text{OCO}$), 91(tropílio), 65(Ph).

A α,α -clorometilciclobutanona 42 exo foi caracterizada através do seu espectro de RMN ^1H , apresentando os mesmos sinais da endo apenas ligeiramente deslocados. Os prótons metílicos apareceram em campo mais baixo, em 1,70 e 1,80ppm e o hidrogênio em C-1 como um dubleto em campo mais alto 4,45 e 4,63ppm ($J=7,3\text{Hz}$). Confirmada a síntese da α,α -clorometilciclobutanona 42, partimos para a clivagem oxidativa, utilizando o mesmo protocolo na obtenção dos aminoácidos 32 e 33.

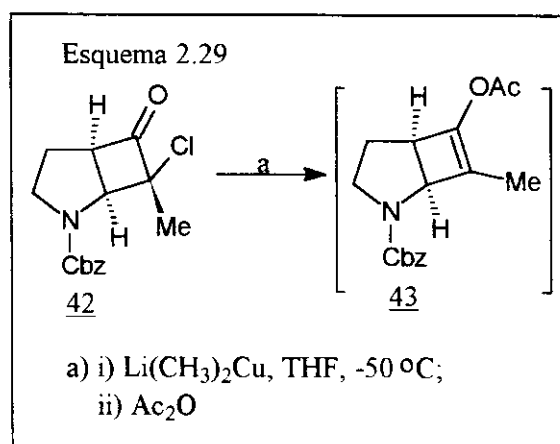
2.3.2- SÍNTESE DA CIS-METIL-N-(BENZOILCARBONIL)-2-ACETIL-3-CARBOXI-PIRROLIDINA 34.

A α,α -clorometilciclobutanona 42 endo foi tratada com dimetilcuprato de lítio gerando seletivamente o α -metilenolato, que na presença de anidrido acético foi acilado formando o enolacetato 43.

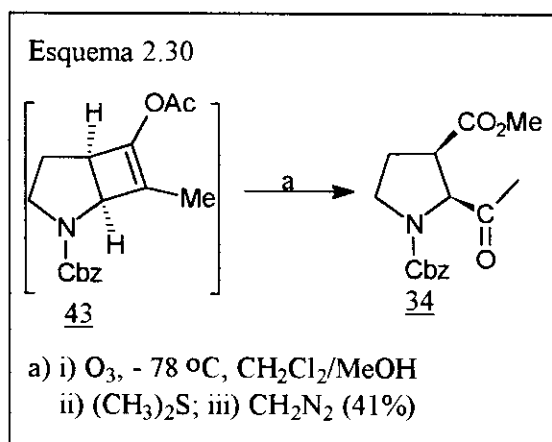
O enolacetato 43 não foi isolado da maneira habitual, através da extração com hexano/éter etílico em $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$ (pH~8). Este procedimento hidrolisou o enolacetato 43, que parece ser bastante instável nestas condições alcalinas, confirmada com a obtenção do produto de hidrólise do enolacetato 43, a α -metilciclobutanona 44 (I.V.; 1780cm^{-1} ; $\text{C}=\text{O}$). Este produto não é útil para o processo de clivagem, pois não apresenta a ligação dupla do enolacetato (esquema 2.28).



Este problema foi contornado pela não realização da extração, sendo feita apenas uma lavagem do bruto reacional com hexano/éter etílico 1:1, e a separação da fase orgânica. (esquema 2.29).



O bruto reacional contendo o enolacetato 43 sofreu clivagem oxidativa com ozônio, e o produto da clivagem foi esterificado com diazometano. O β -aminoéster 34 foi assim obtido em 41% de rendimento após purificação (esquema 2.30).



Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C do β -aminoéster 34 apresentaram sinais duplicados devido a presença de rotâmeros.

O espectro de RMN ^1H apresentou os seguintes dados a 2,07 e 2,29ppm singletos referentes aos hidrogênios metílicos da cetona, a 3,68 e 3,69ppm, singletos dos hidrogênios metílicos do éster e a 4,60 e 4,71ppm, um dubleto com constante de acoplamento igual a 8,5Hz, atribuído ao hidrogênio em C-2 demonstrando a retenção da regioquímica *cis* durante a clivagem.

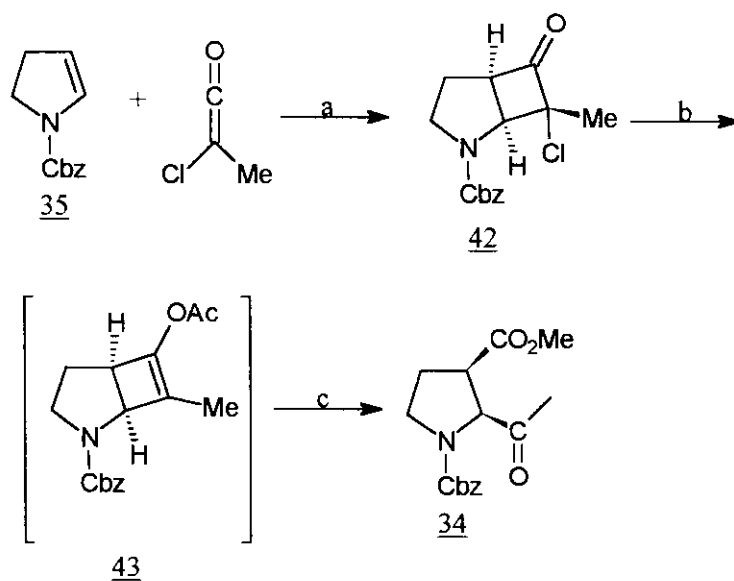
O espectro de RMN ^{13}C apresentou os seguintes sinais: em 29,0 e 29,7ppm está a metila da cetona e em 52,3 e 53,5ppm a metila do éster, às carbonilas estão representadas em 171,0ppm a do éster e em 207,7ppm a carbonila cetônica.

O espectro de I.V. apresentou uma banda larga em 1704cm^{-1} , referentes às carbonilas do carbamato, cetona e éster.

O espectro de massa apresenta os seguintes fragmentos iônicos m/z : 305(M^+), 262($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{CO}$), 203($262 - \text{CO}_2\text{Me}$), 91(tropílio).

Deste modo, os dados espectroscópicos confirmam a síntese da *cis*-metil-N-(benziloxicarbonil)-2-acetil-3-carboxi-pirrolidina 34, a partir do enecarbamato endocíclico 35, em três etapas. Embora a clivagem oxidativa não tenha apresentado bom rendimento (35% de rendimento global), esta reação não foi ainda otimizada, esperando-se melhores resultados no futuro (esquema 2.31).

Esquema 2.31



a) Hexano, 40 °C, (85%); b) i) $\text{Li}(\text{CH}_3)_2\text{Cu}$, THF, -50 °C; ii) Ac_2O
 c) i) O_3 , -78 °C $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, ii) $(\text{CH}_3)_2\text{S}$; iii) CH_2N_2 (41%)

2.4- CONCLUSÕES:

Apresentamos neste trabalho a síntese dos análogos conformacionalmente restringidos do ácido aspártico 32 (cis e trans -2,3-dicarboxipirrolidina), do ácido glutâmico 33 (cis e trans 2-carboxi-3-pirrolidina) e da cis-metil-N-(benziloxicarbonil)-2-acetil-3-carboximetil-pirrolidina 34, a partir da funcionalização do enecarbamato endocíclico 35. O enecarbamato 35 mostrou-se bastante versátil, pois partindo de um único substrato foi possível construir vários aminoácidos restringidos, sendo estes de grande importância em estudos de biologia molecular.

A clivagem oxidativa da α,α -diclorociclobutanona 36 nos levou ao cis diéster 38 seletivamente e com bons rendimentos(75%). Isto demonstra que a utilização de dimetilcuprato de lítio na formação do enolacetato 37 e ozônio na clivagem foram determinantes para o sucesso da síntese. Demonstramos que a isomerização do diéster 38 pode levar a ambos os aminoácidos cis e trans seletivamente.

A cicloexpansão da α,α -diclorociclobutanona 36 com diazometano mostrou-se bastante sensível às condições reacionais, sendo que bons rendimentos foram obtidos (80%) quando utilizamos um excesso de diazometano de 0,5 equivalentes. A clivagem oxidativa da ciclopentanona 39 forneceu o diéster 41 com bons rendimentos (60%), que foi levado ao aminoácido cis-33 seletivamente. Entretanto as tentativas de se obter seletivamente o isômero trans a partir de cis-33 não conduziram a bons resultados. Resultados melhores poderão ser obtidos através da isomerização do aminoácido protegido.

A clivagem oxidativa da α,α -clorometilciclobutanona 42 forneceu em baixos rendimentos (41%) o composto 34, mas seletivamente. As condições reacionais que levam a este, ainda não foram otimizadas.

CAPÍTULO 3

3- EXPERIMENTAL

3.1- MATERIAIS E MÉTODOS

PROCEDIMENTOS GERAIS:

Em todas as reações sensíveis a presença de umidade a vidraria foi seca em estufa 140 °C pelo tempo mínimo de 6 horas e resfriadas em dessecador.

As reações sensíveis a oxigênio foram conduzidas sob atmosfera de argônio ou nitrogênio seco.

Todas as reações tiveram agitação magnética através de barras magnéticas recobertas com teflon, exceto quando mencionado.

Os solventes foram removidos em rotaevaporador Buchi, e o solvente residual removido em bombas de alto vácuo.

REAGENTES E SOLVENTES:

Os solventes e ou reagentes foram preparados e ou purificados conforme descrito abaixo:

a) Destilação a partir de CaH_2 :

- Hexano, trietilamina, diclorometano

b) Pré secagem em CaH_2 e após destilação na presença de sódio metálico e benzofenona, sob atmosfera de nitrogênio seco:

- THF

c) Tratamento com magnésio ativo e iodo:

- Metanol

d) Destilação a partir de pentóxido de fósforo:

- Anidrido acético

e) Destilação simples:

- Cloreto de dicloroacetila e cloreto de 2-cloropropionila

f) Co-destilação em éter etílico a partir da hidrólise do Diazald

- Diazometano³⁷

CROMATOGRAFIA:

Cromatografia em camada fina: Foi utilizado cromatofolhas de sílica 60 F_{254} (Merck ou Aldrich) com indicador e espessura 0,2mm.

As placas foram reveladas pelos seguintes métodos:

- Ultravioleta, e ou

- Vapor de iodo, e ou

- Imersão em solução de ácido fosfomolibdico a 7% em etanol e seguido de aquecimento a aproximadamente 100 °C, e ou
- imersão em solução de ninidrina em etanol a 10% e aquecimento a 100 °C.

Cromatografia Líquida: Foi utilizada a cromatografia “flash”, termo este referido a técnica desenvolvida por Still³⁸. Nesta técnica utilizou-se sílica-gel (200-400 mesh) Aldrich.

Para a cromatografia de troca iônica foi utilizada uma resina catiônica, Dowex 50x8 (200-400 mesh) Aldrich.

DADOS FÍSICOS:

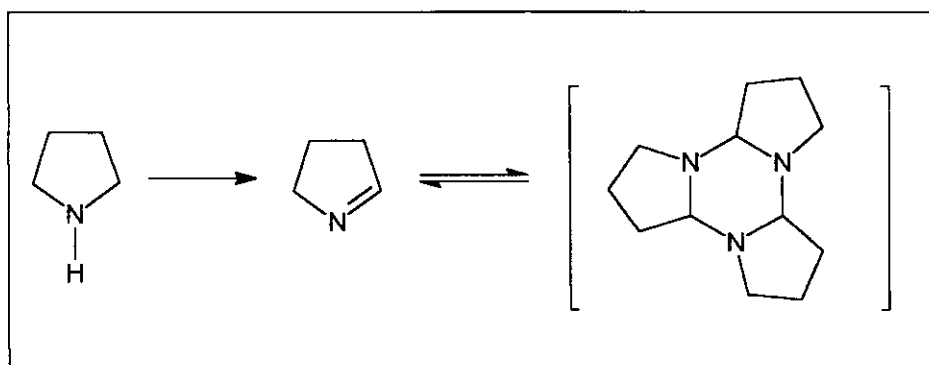
Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono foram obtidos nos instrumentos Bruker AC 300P ou Gemini 300(varian). Os deslocamentos químicos (δ) estão representados em partes por milhão (ppm), utilizando como padrão interno tetrametilsilano (TMS). Os dados de RMN ^1H foram relatados da seguinte forma: deslocamento químico (n° de prótons, multiplicidade, constante de acoplamento(J) em Hz e quando possível o carbono correspondente).

As abreviaturas utilizadas para indicar a multiplicidade dos sinais são: s = singleto, d = dubleto, t = tripleto, m = multipeto, dd = duplo dubleto.

Os dados de RMN ^{13}C foram relatados da seguinte forma: deslocamento químico (substituinte do carbono).

Os espectro de massa foram obtidos no aparelho MSD HP 5970B, com voltagem de feixe de elétrons de 70eV. Os fragmentos foram descritos com relação entre a unidade de massa atômica e carga (m/z) e a abundância relativa em percentagem (%).

3.2- SÍNTESE DO TRÍMERO DA 1-PIRROLINA*



Uma solução aquosa de persulfato de sódio a 25% (10,47g; 44mmoles), em um funil de adição, foi adicionado lentamente (1 hora), sobre uma solução aquosa a 0 °C, contendo a pirrolidina (3,65ml; 44mmoles), hidróxido de sódio (3,48g; 87mmoles) e nitrato de prata (0,037g; 0,22mmoles), dissolvidos em 42ml de água destilada.

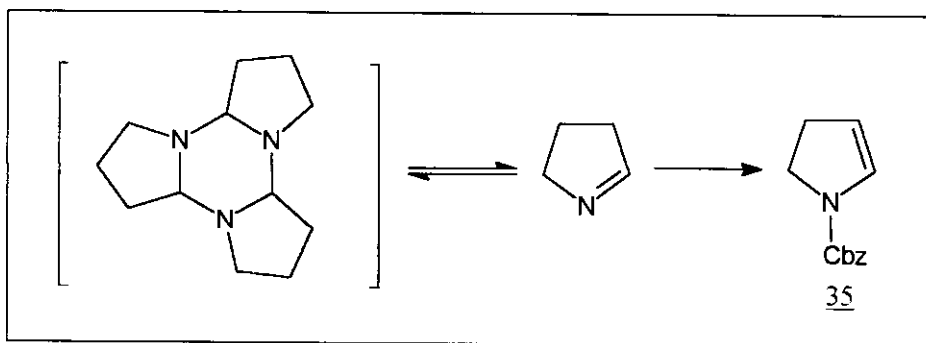
Após o término da adição, a solução apresentava coloração alaranjada, permanecendo em agitação por mais 1 hora a 0 °C e posteriormente por mais 1 hora a temperatura ambiente.

Após este tempo a solução apresentava coloração escura devido a oxidação do catalisador (nitrato de prata). O meio reacional foi extraído com diclorometano (3 x 30ml), e a fase orgânica combinada foi seca sobre sulfato de sódio anidro e filtrada, e o solvente removido sob vácuo.

Foi obtido um óleo viscoso de coloração alaranjada com massa igual a 2,40g (11,61 mmoles), correspondendo a um rendimento bruto de 79%.

O trímico elaborado do modo acima, foi utilizado imediatamente sem qualquer purificação devido sua rápida decomposição.

* Preparado de acordo com Kraus²².

3.2- SÍNTESE DO N-(BENZILOXICARBONIL)-2-PIRROLINA 35*

Uma solução 0,1M do trimero da 1-pirrolina (2,40g; 11,6mmoles, 116ml de THF) foi destilada para um balão de três bocas a -78 °C, contendo DMAP (0,1g; 0,82mmoles) e trietilamina (31,92mmoles; 4,44ml).

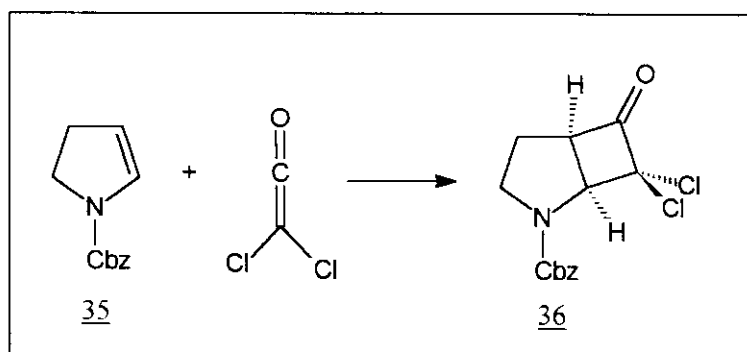
Após o término da destilação, a -78 °C, foi adicionado lentamente pelo período de 30 minutos uma solução de cloroformato de benzila (3,3ml; 23,2 mmoles; 4ml de THF). Durante a adição ocorreu a formação de uma suspensão branca. Após a adição a suspensão foi deixada vir a temperatura ambiente, permanecendo por 15 horas sob agitação.

A suspensão obtida foi filtrada e o solvente removido sob vácuo, resultando em um óleo viscoso de coloração alaranjada.

A purificação em coluna cromatográfica “flash” gel de sílica (hexano/acetato de etila 10%) forneceu 1,99g de um óleo incolor (42 % de rendimento) caracterizado como o enecarbamato endocíclico 35 (R_f=0,6 hexano/acetato de etila 20%).

* Preparado de acordo com Kraus²².

3.4- SÍNTESE DA N-(BENZILOXICARBONIL)-7,7-DICLORO-2-AZA-BICICLO-[3.2.0]-HEPTAN-6-ONA 36*



A uma solução do enecarbamato endocíclico 35 (0,34g; 1,67mmoles) em hexano (50ml) e trietilamina (0,5ml; 3,59mmoles) a 40 °C, foi adicionado pelo período de 60 minutos uma solução hexânica do cloreto de dicloroacetila (0,19ml; 1,9mmoles; dissolvidos em 10ml de hexano seco). (No início da adição do cloreto de dicloroacetila ocorreu imediatamente a formação de cloridrato de trietilamônio, que precipita no meio reacional).

Após o término da adição uma análise em CCF demonstrou a ausência do enecarbamato e o surgimento de um produto mais polar. A mistura reacional que inicialmente apresentava-se como uma suspensão branca, tornou-se levemente escura devido a uma pequena polimerização do ceteno.

A suspensão foi filtrada e o precipitado lavado com 30ml de acetato de etila. Evaporação sob vácuo do filtrado forneceu um óleo amarelo escuro. Purificação deste óleo em coluna cromatográfica “flash” de sílica gel (hexano/acetato de etila 30%), forneceu 0,45g (87% de rendimento), de um óleo amarelo caracterizado como a α,α -diclorociclobutanona 36 ($R_f=0,38$ hexano/acetato de etila 30%).

*Preparado de acordo com Faria e Correia²⁴

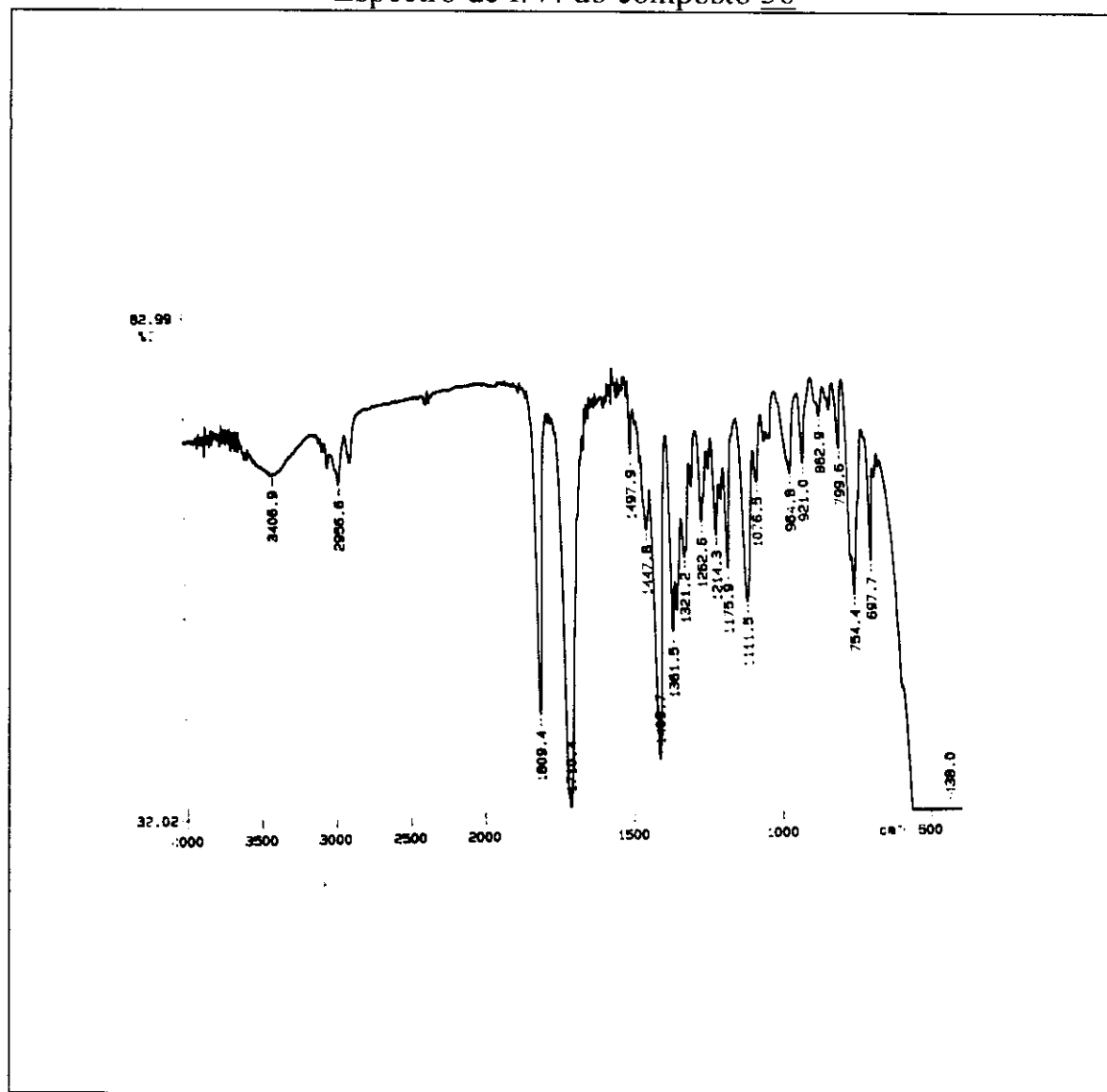
DADOS ESPECTROMÉTRICOS*: Os sinais estão duplicados nos espectro de RMN ^1H e RMN ^{13}C devido a presença de rotâmeros.

RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , ppm):
2,00(1H, m); 2,23(1H, dd, $J=6,7$ e $13,3$ Hz); 3,30(1H, m); 3,90(1H, m); 4,20(1H, m); 4,78 e 4,90(1H, d, $J=7,3$ Hz); 5,15(2H, s); 7,30(5H, m agudo).

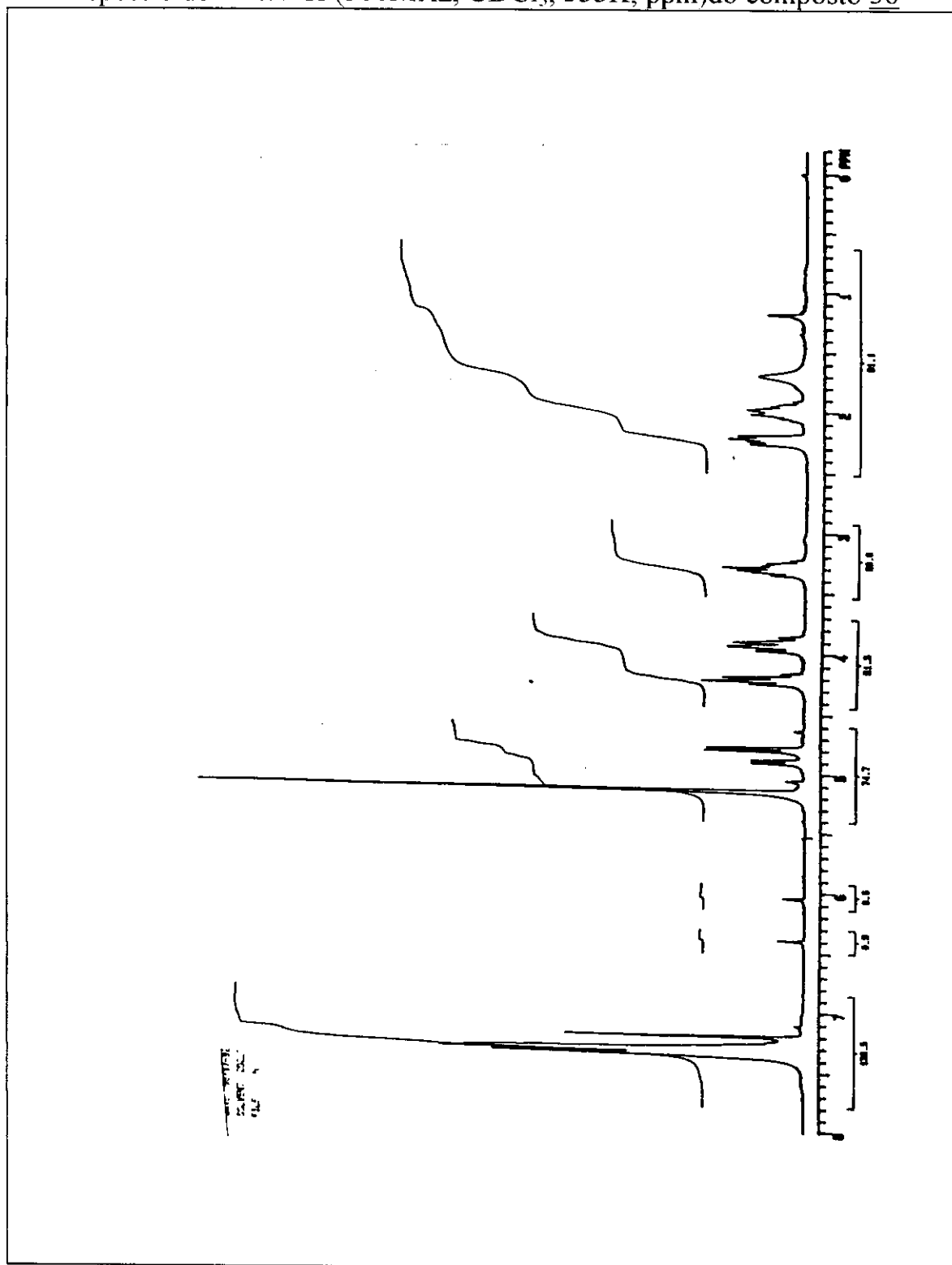
I.V.(filme, cm^{-1}):
1809; 1710; 1409; 1361; 1111; 754; 697

* Dados complementares encontram-se na tese de mestrado de Antônio Rodolfo de Faria, UFRJ, 1992.

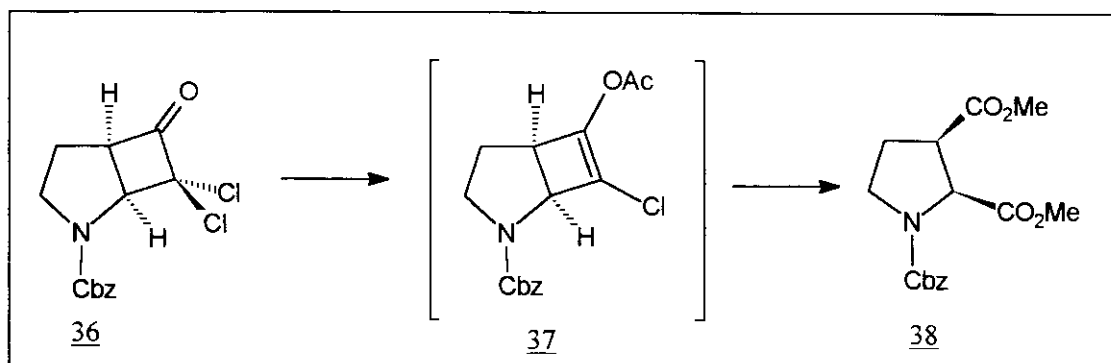
Espectro de I.V. do composto 36



Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , 333K, ppm)do composto 36



3.5- SÍNTESE DA CIS-DIMETIL-N-(BENZOLOXICARBONIL)-2,3-DICARBOXI-PIRROLIDINA 38.



A uma solução heterôgenea de iodeto de cobre (0,280g; 1,4mmoles) em THF(5ml) a -20°C , foi adicionado num período de 2 minutos, uma solução etérea de metilítio 0,65M(4,3ml; 2,8mmoles). Durante a adição do primeiro equivalente de metilítio ocorre mudança na coloração (incolor para amarelo), devido a formação do metil cobre. Após a adição do segundo equivalente a solução tornou-se incolor. A temperatura foi então elevada a 0°C e depois reduzida a -50°C .

Sobre a solução do dimetilcuprato de lítio(1,4mmoles) a -50°C foi adicionado, num período de 2 minutos, uma solução da α,α -diclorociclobutanona 36 (0,19g; 0,61mmoles em 2ml de THF). Após 50 minutos, (solução apresentava coloração laranja) foi adicionado anidrido acético(0,6ml; 6,1mmoles), o meio reacional passou de laranja para amarelo. O banho de gelo foi retirado, permanecendo esta solução em agitação por 3 horas a temperatura ambiente.

Após este período a mistura reacional foi vertida para um funil de separação contendo 30ml de uma solução aquosa de $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$ (pH~8) e extraída com uma solução de hexano/éter etílico 1:1(3x15ml).

A fase orgânica combinada foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado sob vácuo, fornecendo um óleo amarelo claro de massa 0,20g.

Análise por CCF do óleo obtido indicou o consumo do material de partida ($R_f=0,38$; hexano/acetato de etila 30%) e o surgimento de um composto majoritário, mais apolar ($R_f=0,5$ hexano/acetato de etila 30%).

Devido a instabilidade do enolacetato 37, este não foi purificado sendo utilizado imediatamente na reação de ozonólise.

Sobre uma solução do enolacetato 37 bruto (0,198g) em diclorometano/metanol 7:3 (5ml) a -78°C , foi borbulhado ozônio até o surgimento de coloração azul no meio reacional. Em seguida foi borbulhado

argônio para eliminação do excesso de ozônio, voltando a solução a apresentar-se incolor, quando então foi adicionado dimetilsulfeto (0,4ml; 5,45mmoles). (A coloração do meio reacional tornou-se amarela após a adição do dimetilsulfeto). O banho de gelo foi retirado e a mistura reacional permaneceu em agitação a temperatura ambiente por 12 horas.

Após este período o solvente foi evaporado sob vácuo e o óleo resultante dissolvido em 2ml de metanol/éter etílico 1:1. A esta solução a 0 °C foi adicionado uma solução etérea de diazometano, até surgimento de uma coloração amarela no meio reacional, o que indicava um excesso de diazometano. Após 10 minutos o excesso de diazometano foi eliminado com poucas gotas de ácido acético.

Evaporação do solvente sob vácuo resultou em um óleo amarelo que foi purificado em coluna cromatográfica “flash” (gel de sílica, hexano/acetato de etila 35%), fornecendo 0,15g (75% de rendimento) de um óleo amarelo pálido caracterizado como o diéster 38 ($R_f=0,20$ hexano/acetato de etila 30%).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS:

* Os sinais estão duplicados nos espectro de RMN ^1H e ^{13}C devido a presença de rotâmeros

RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , ppm):

2,08-2,20 (1H, m, H_4); 2,30-2,50 (1H, m, H_4); 3,23-3,37 (1H, m, H_5); 3,41-3,51(1H,m, H_5); 3,58, 3,68 e 3,71(6H, s, CO_2CH_3); 3,75-3,82 (1H,m, H_3); 4,58 e 4,67 (1H,d, $J=8,4$ e $8,4\text{Hz}$, H_2); 5,03-5,19(2H, m, PhCH_2); 7,28-7,36 (5H,m, Ar.).

RMN ^{13}C (300MHz, CDCl_3 , ppm):

26,1 e 27,0 (CH_2); 45,5 e 45,8 (CH_2); 46,2 e 47,1 (CH); 52,27 e 52,38 (OCH_3); 60,5 e 60,8 (CH); 67,2(CH_2Ph); 127,8 e 127,9 (CH aromático); 128,0 e 128,1 (CH aromático); 128,4 e 128,5 (CH aromático); 136,3 e 136,4 (C aromático); 153,9 e 154,6 (C=O); 170,6 e 170,7 (C=O).

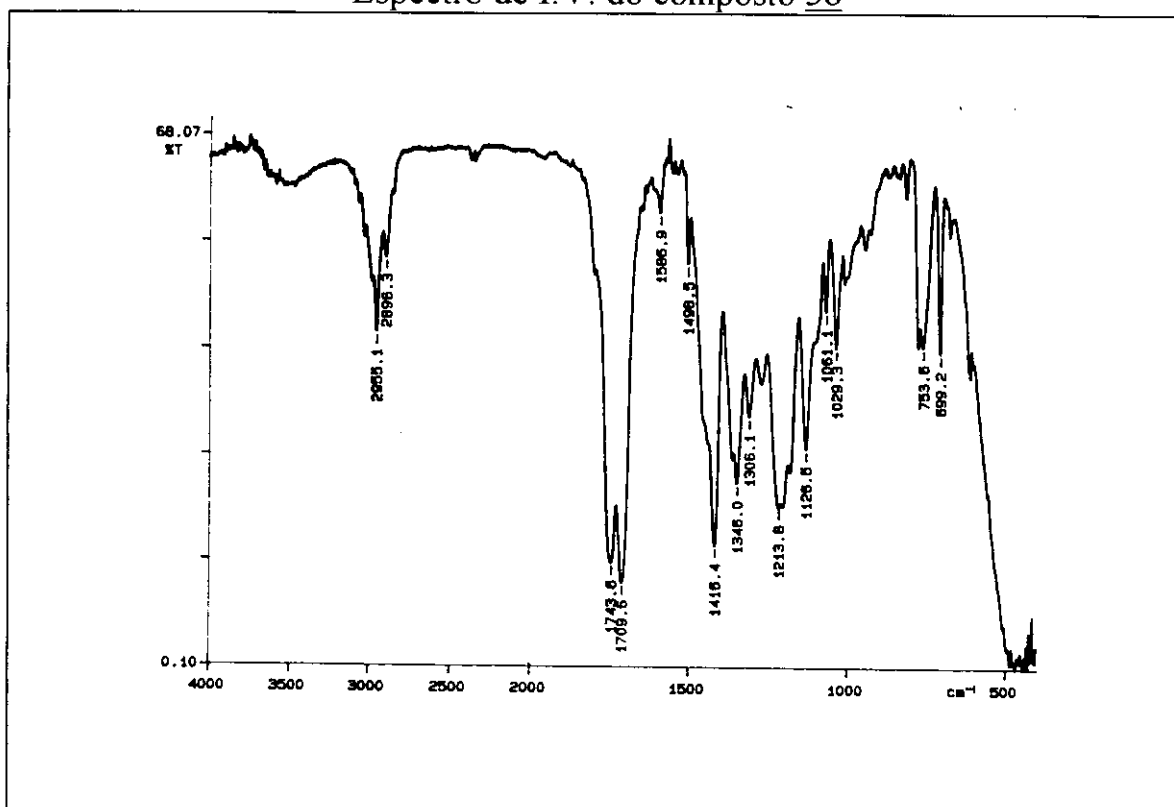
I.V. (filme, cm^{-1}):

1743, 1709, 1416, 1346, 1213, 753, 699

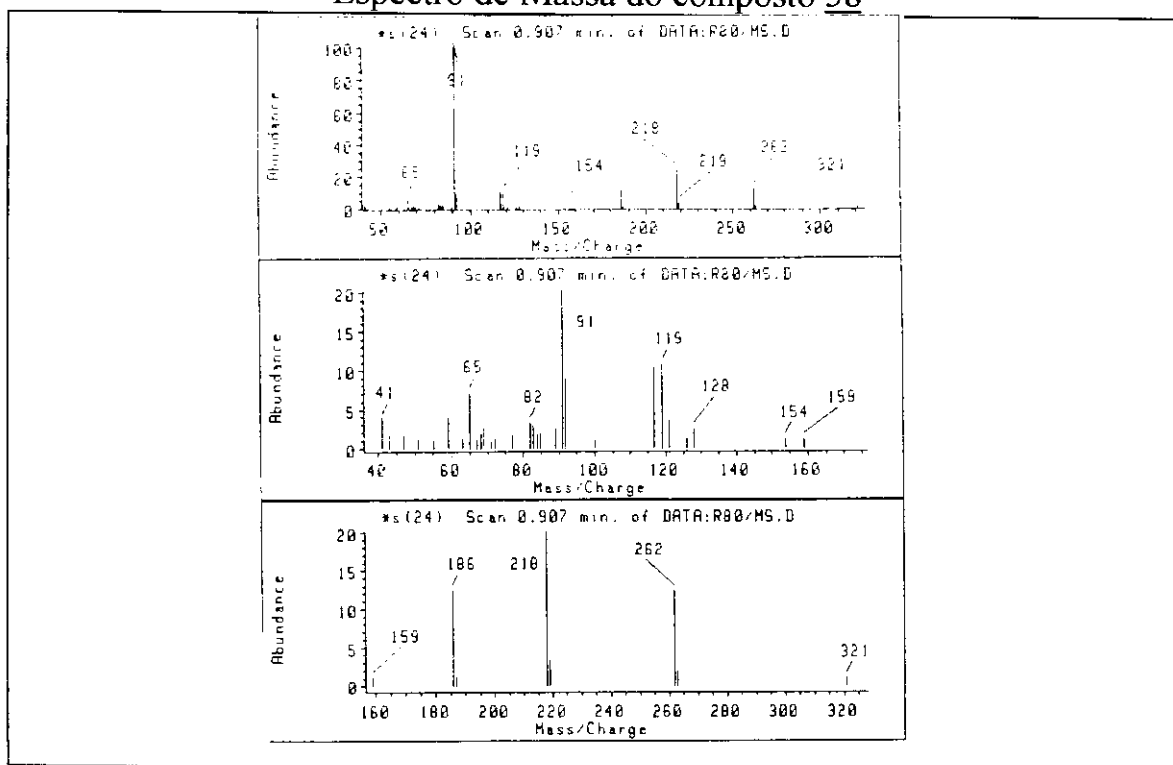
E.M. (m/z, abundância relativa)

321(M^+), 262(15), 218(25), 186(12), 119(10), 91(100), 65(5)

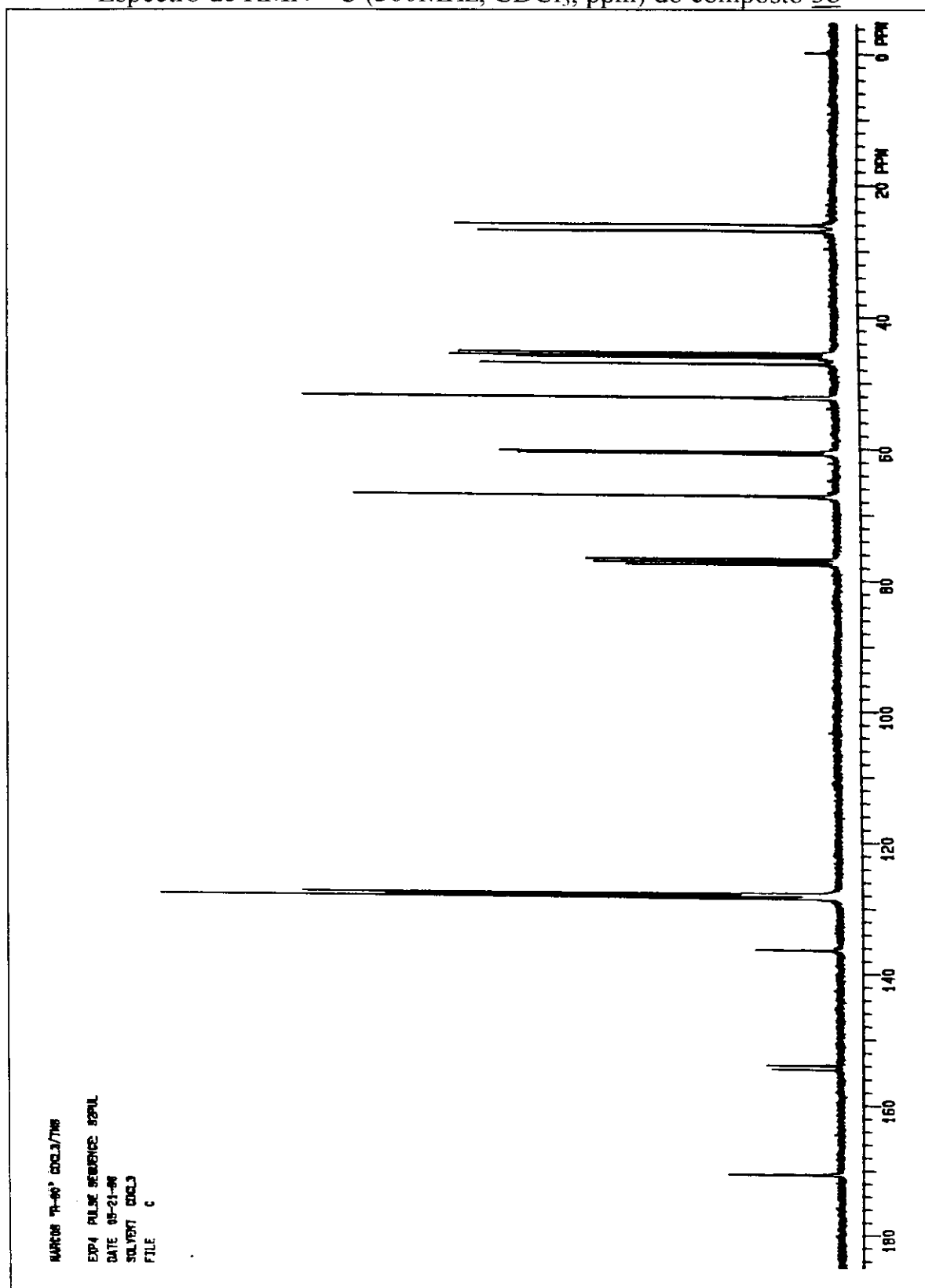
Espectro de I.V. do composto 38

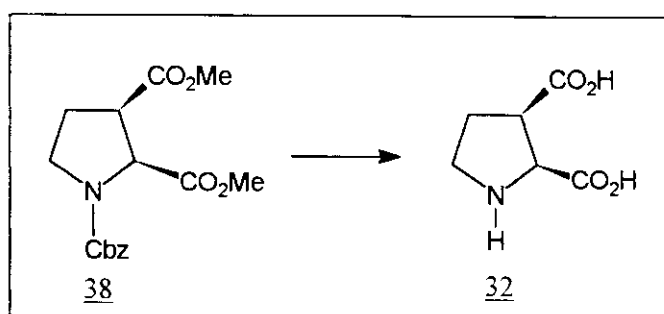


Espectro de Massa do composto 38



R-00' 0013/710
 1.00 SEQUENCE 9201
 15-21-95
 1 0013
 H

Espectro de RMN ^{13}C (300MHz, CDCl_3 , ppm) do composto 38

3.6- SÍNTESE DA CIS-2,3-DICARBOXI-PIRROLIDINA 32

A uma solução do diéster 38 (0,044g; 0,137mmoles), em metanol (5ml) foi adicionado hidróxido de paládio sob carvão 20% (0,005g). Sobre esta suspensão a temperatura ambiente foi borbulhado hidrogênio por 30 minutos. A reação foi então deixada por 12 horas sob atmosfera de hidrogênio.

A solução foi filtrada para remover o paládio e carvão e a remoção do solvente sob vácuo, forneceu um óleo amarelo pálido.

Este óleo foi dissolvido em ácido clorídrico 6M (3ml), e aquecido a 70 °C por 12 horas. Após remoção do solvente sob vácuo, o bruto reacional foi purificado através de cromatografia de troca iônica (resina Dowex 50x8; 200-400 mesh, altura 3cm e largura 1cm). A amostra foi dissolvida em 1ml de água, aplicada na coluna e eluída com 50ml de água e 50 ml de hidróxido de amônia 3M. As frações que se revelaram positivas com ninidrina, (coloração amarela), foram reunidas e aquecidas até ebulição por 30 minutos em carvão ativo. Após filtração o filtrado foi liofilizado, obtendo-se 0,018g (82% de rendimento) de um óleo incolor caracterizado como a cis-2,3-dicarboxi-pirrolidina 32.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS:

I.V. (Pastilha de KBr, cm^{-1}):

3425, 3188, 1621, 1405, 1127, 1050, 527

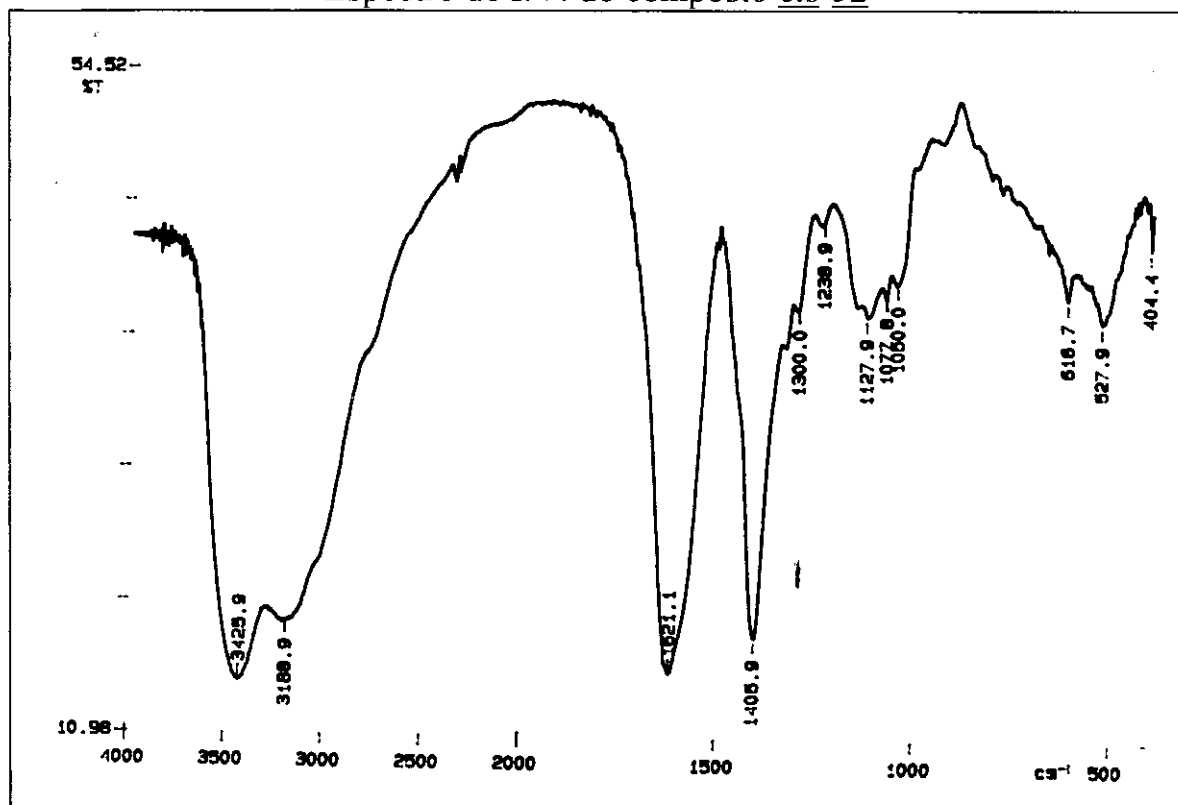
RMN ^1H (300MHz, D_2O , ppm): *contaminado com etanol e acetona 2,08-2,24 (2H, m, H_4); 3,22-3,48 (3H, m, H_3 e H_5); 4,12 (1H, d, $J=7\text{Hz}$, H_2).

RMN ^1H (300MHz, D_2O , ppm): *sem contaminação de solvente 2,09-2,29 (2H, m, H_4); 3,27-3,48 (3H, m, H_3 e H_5); 4,10 (1H, m, H_2).

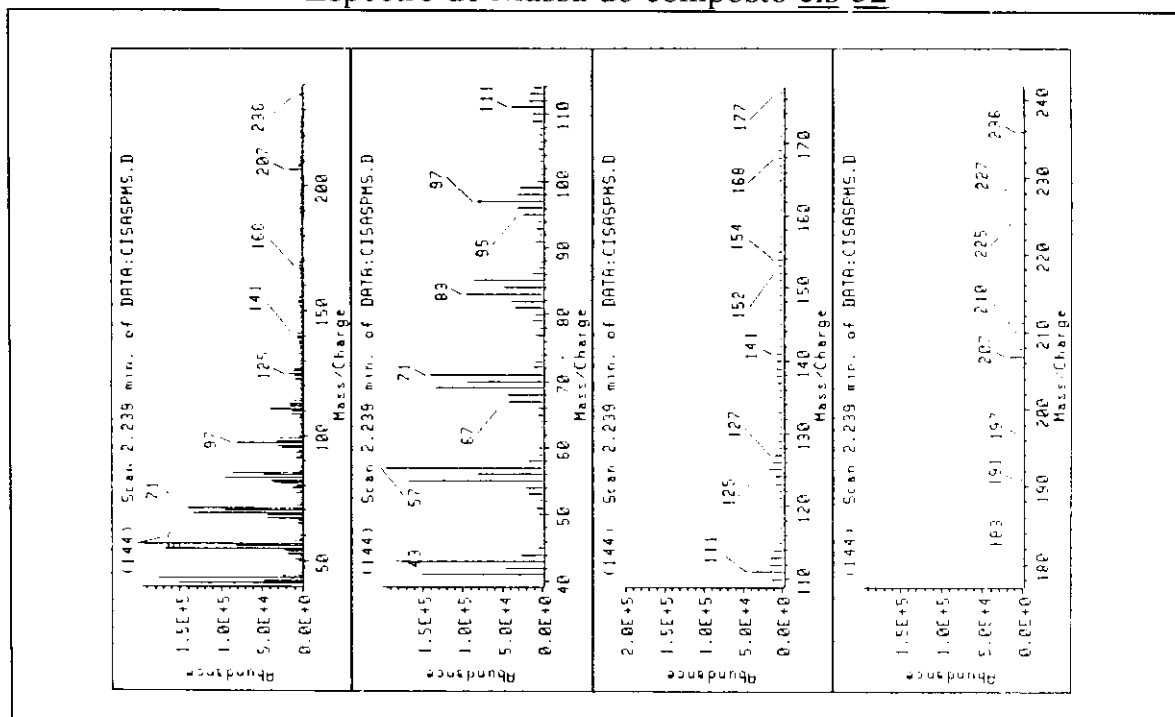
RMN ^{13}C (300MHz, D_2O , CDCl_3):*contaminado com etanol e acetona 28,4 (CH_2); 44,0 (CH_2); 45,7 (CH); 63,9 (CH); 171,7 (C=O); 176,6 (C=O).

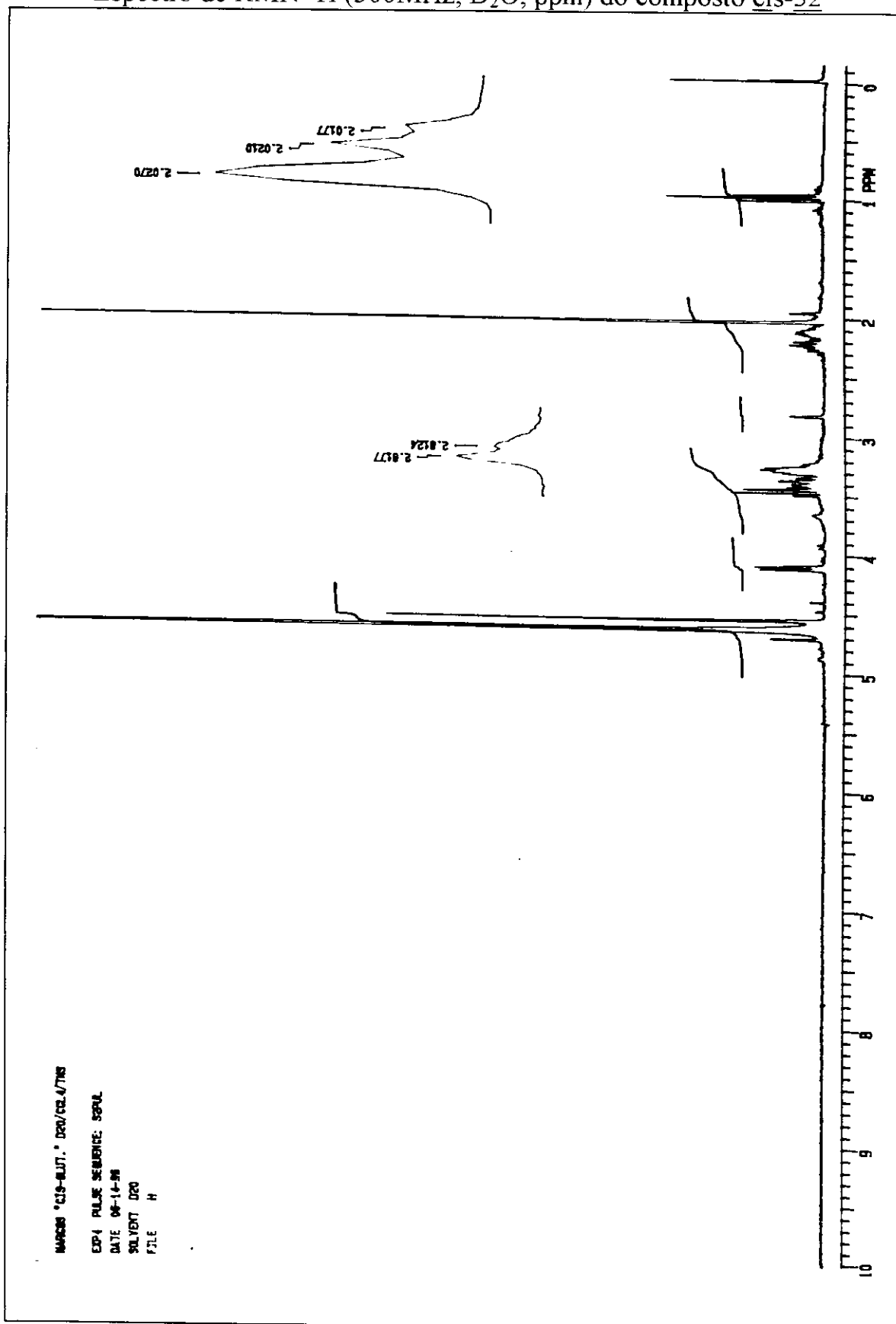
E.M. (m/z, abundância relativa):
141(5), 111(20), 97(35), 71(65), 69(60), 57(100).

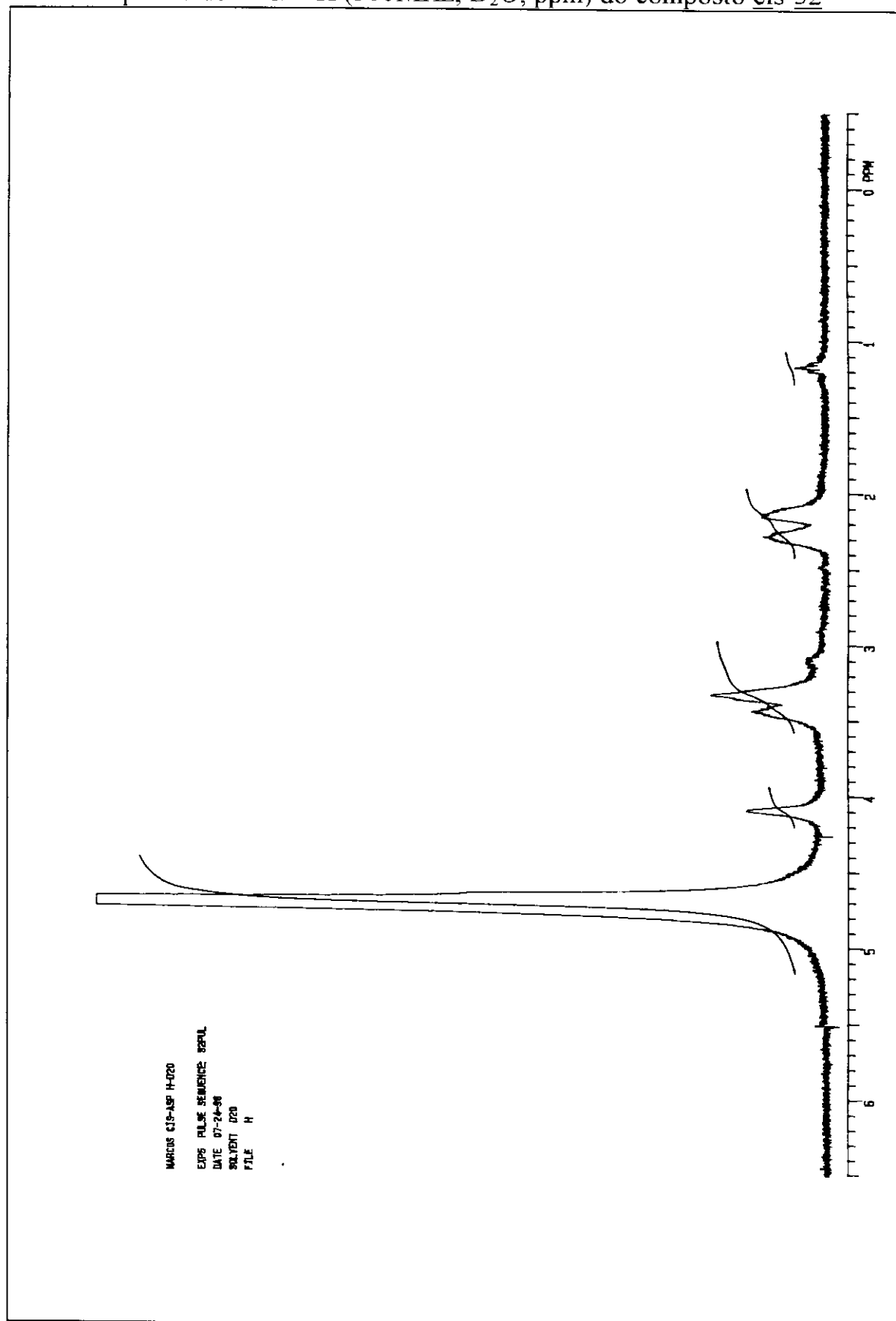
Espectro de I.V. do composto cis-32

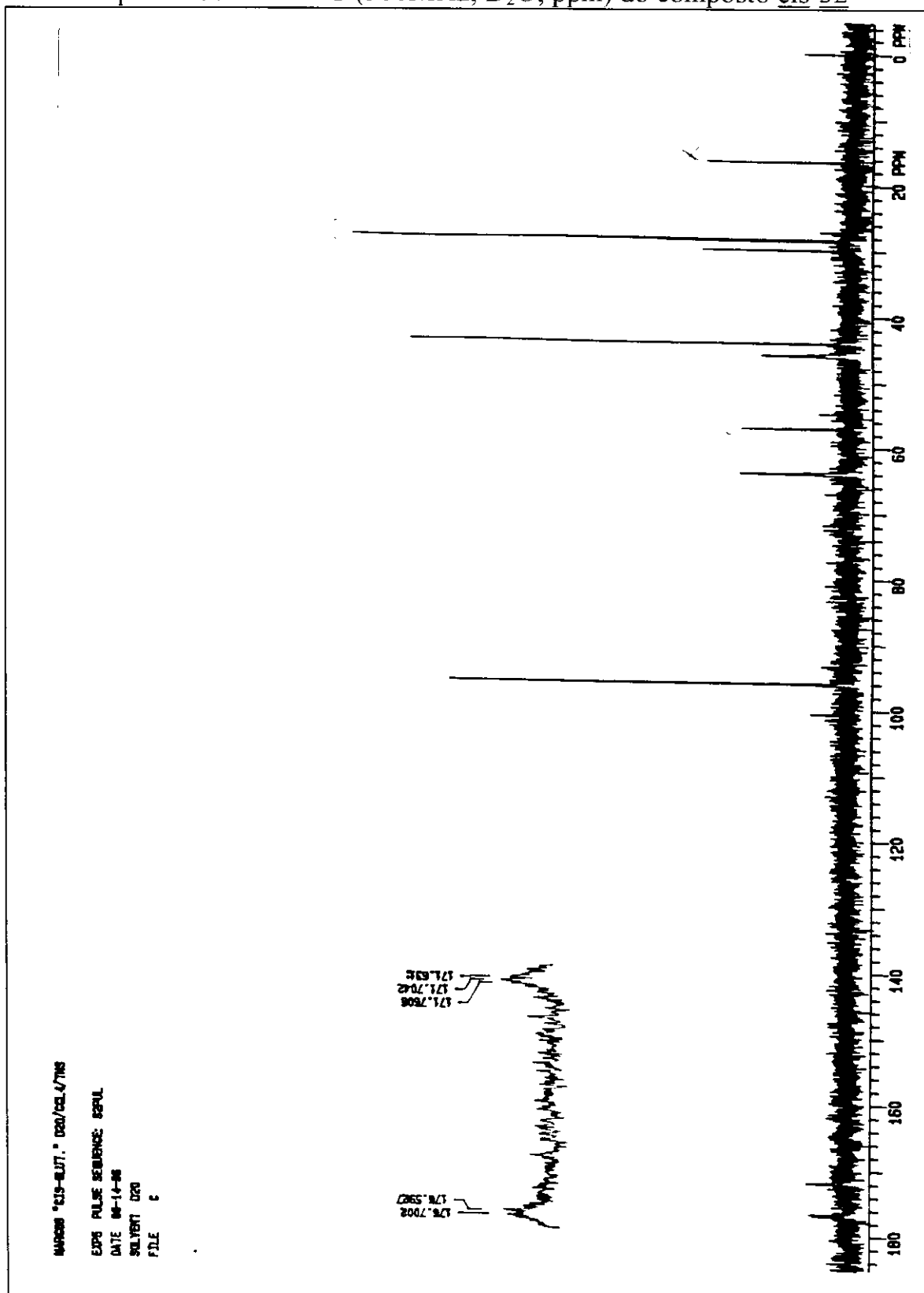


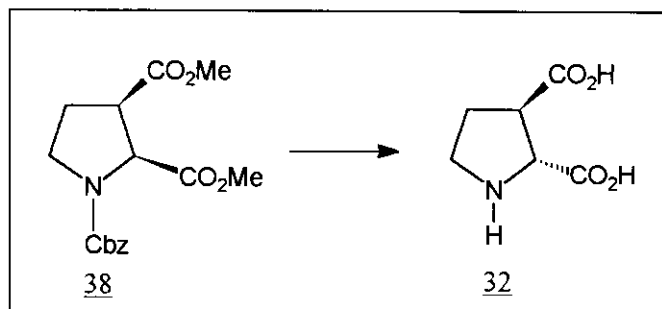
Espectro de Massa do composto cis-32



Espectro de RMN ^1H (300MHz, D_2O , ppm) do composto cis-32

Espectro de RMN ^1H (300MHz, D_2O , ppm) do composto cis-32

Espectro de RMN ^{13}C (300MHz, D_2O , ppm) do composto cis-32

3.7- SÍNTESE DA TRANS-2,3-DICARBOXI-PIRROLIDINA 32.

Uma solução do diéster 38 (0,019g, 0,06mmoles) em metóxido de sódio e metanol (0,001g de sódio em 5ml de metanol), foi mantida sob refluxo por um período de 5 horas. Em seguida a solução foi acidificada a pH~3 com HCl 10% e extraída com acetato de etila (3x10ml). A fase orgânica combinada foi seca com sulfato de sódio anidro e evaporada sob vácuo.

O óleo amarelo resultante, dissolvido em 3ml de metanol, e adicionou-se 2mg de hidróxido de paládio 20%. Sobre esta solução foi borbulhado hidrogênio por 30 minutos, e o meio reacional mantido sob atmosfera de hidrogênio por um período de 12 horas.

Após filtração e remoção do solvente sob vácuo, o óleo resultante foi dissolvido em 3ml de THF e 2ml de uma solução de hidróxido de sódio a 10% aquoso. Após 3 horas a solução foi acidificada a pH~3 e evaporada. O resíduo obtido foi dissolvido em água e purificado em cromatografia de troca iônica (resina Dowex 50x8 (200-400mesh), altura 3cm, largura 0,5cm). Através da eluição com 20ml de água e 20ml de hidróxido de amônio 3M.

As frações que se revelaram positivas (coloração amarela) com ninidrina foram combinadas e mantidas por 30 minutos em ebulição com carvão ativo. Filtração seguido de liofilização, forneceu 0,005g de um óleo levemente amarelado (52% de rendimento), caracterizado como a trans-2,3-carboxi-pirrolidina 32.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS:

I.V. (Pastilha de KBr, cm^{-1}):

3423, 3188, 1621, 1404, 1172, 1050, 521

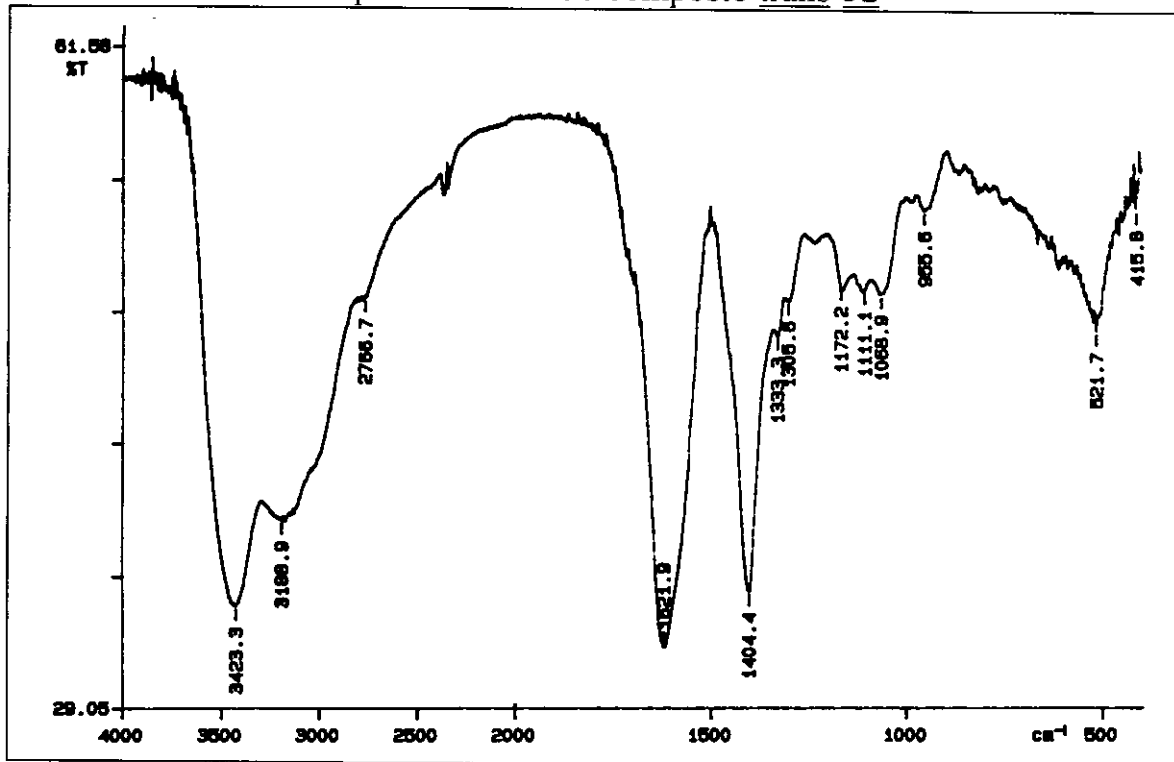
RMN ^1H (300MHz, D_2O , ppm):*contaminado com etanol e acetona
1,92-2,08 (1H, m, H_4); 2,12-2,22 (1H, m, H_4); 3,11-3,49 (3H, m, H_3 e H_5);
3,93 (1H, d, $J=5,2\text{Hz}$, H_2).

RMN ^1H (300MHz, D_2O , ppm):*sem contaminação de solvente
2,08-2,12 (1H, m, H_4); 2,12-2,26 (1H, m, H_4); 3,23-3,42 (3H, m, H_3 e H_5);
4,06 (1H, m, H_2).

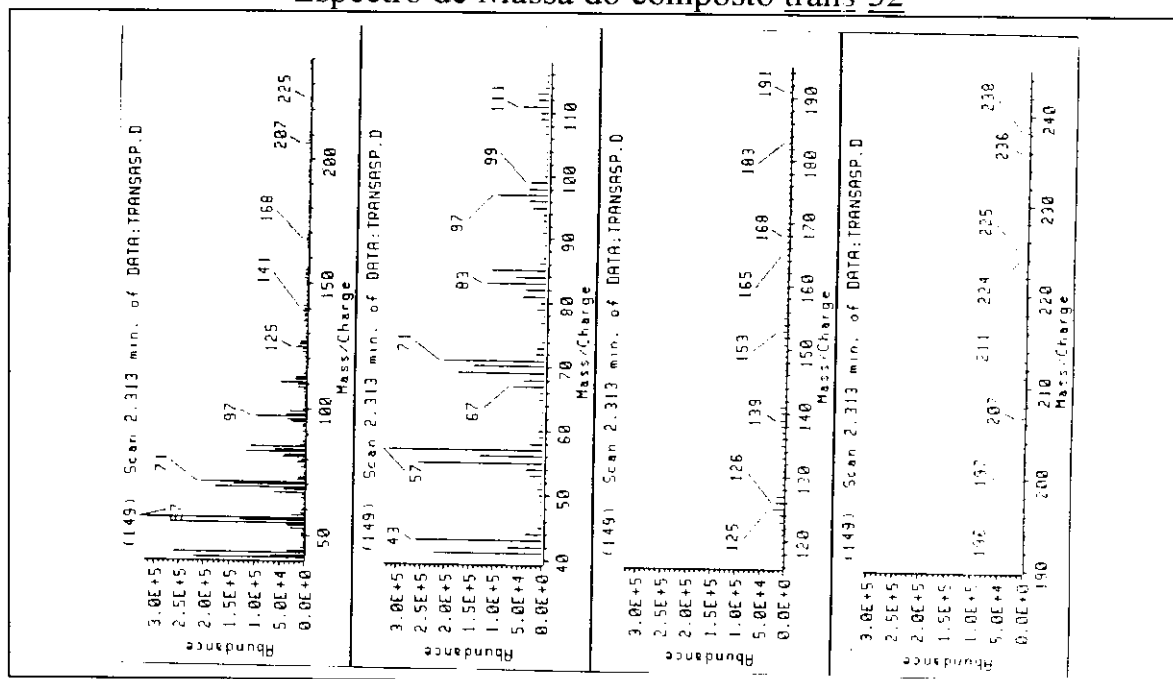
RMN ^{13}C (300MHz, D_2O , ppm): *contaminado com etanol e acetona
28,8 (CH_2); 43,8 (CH_2); 47,3 (CH); 64,5 (CH); 173 ($\text{C}=\text{O}$); 179 ($\text{C}=\text{O}$).

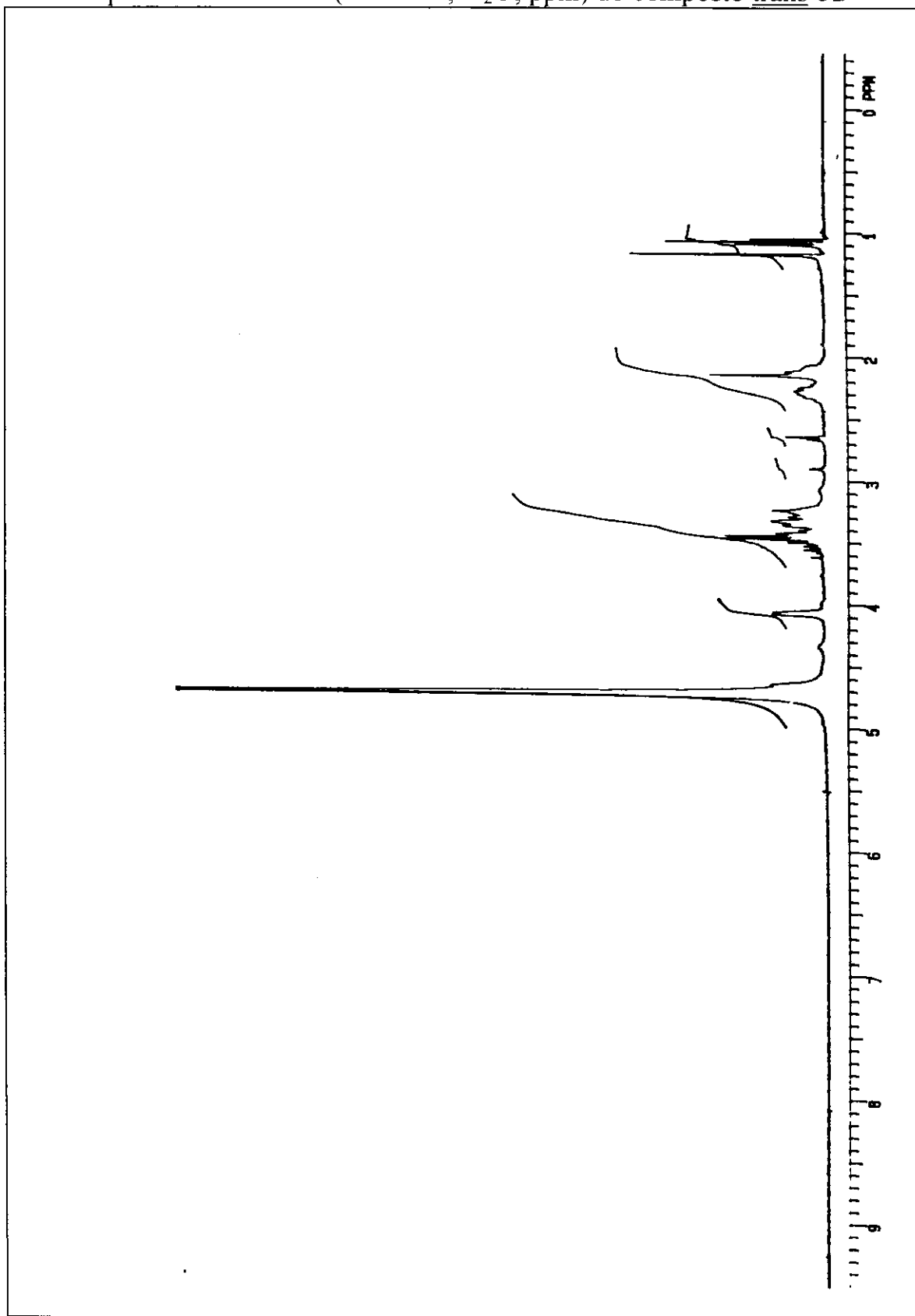
E.M. (m/z, abundância relativa):
191(3), 141(5), 125(10), 111(15), 97(25), 71(50), 57(100).

Espectro de I.V do composto trans-32

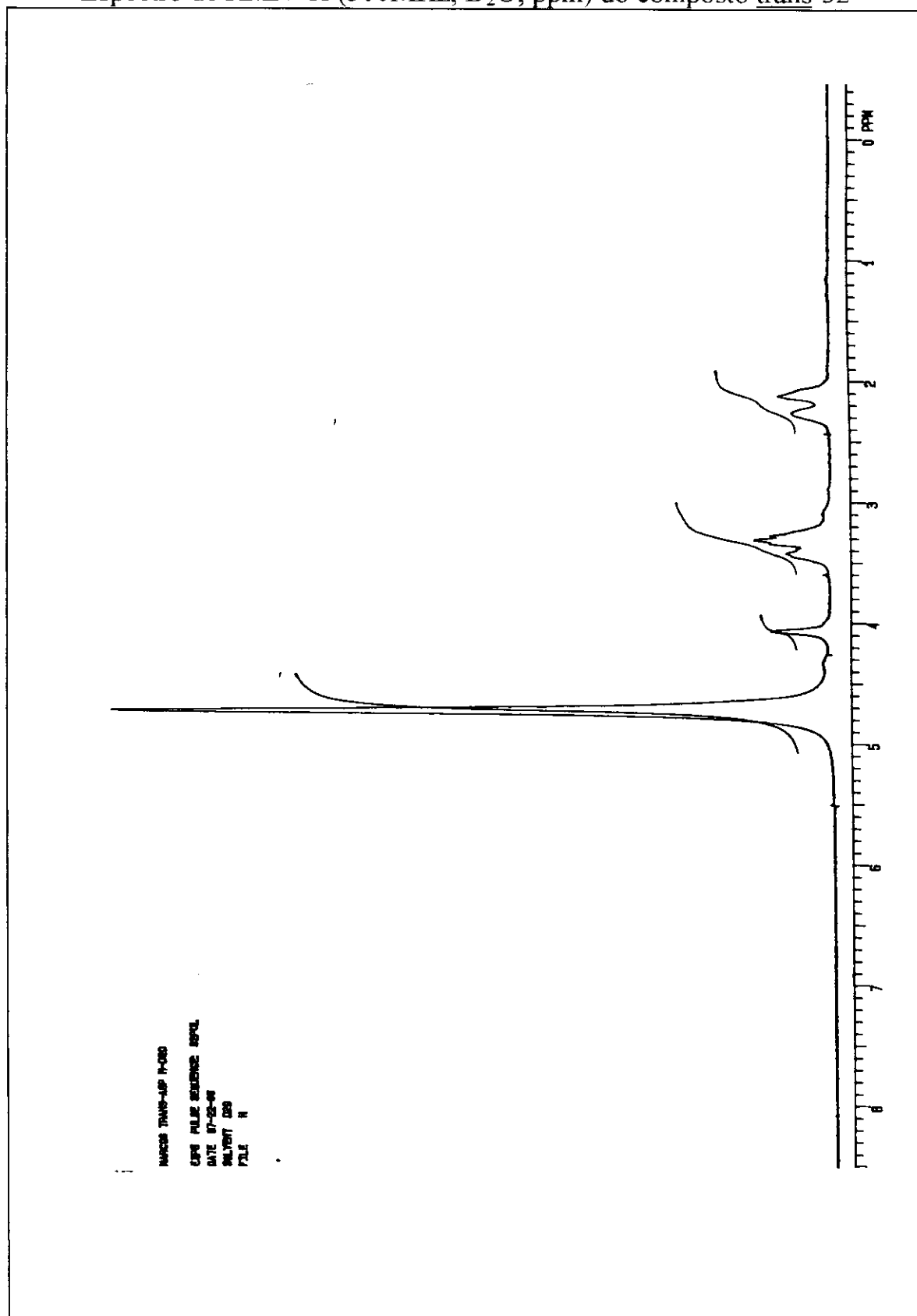


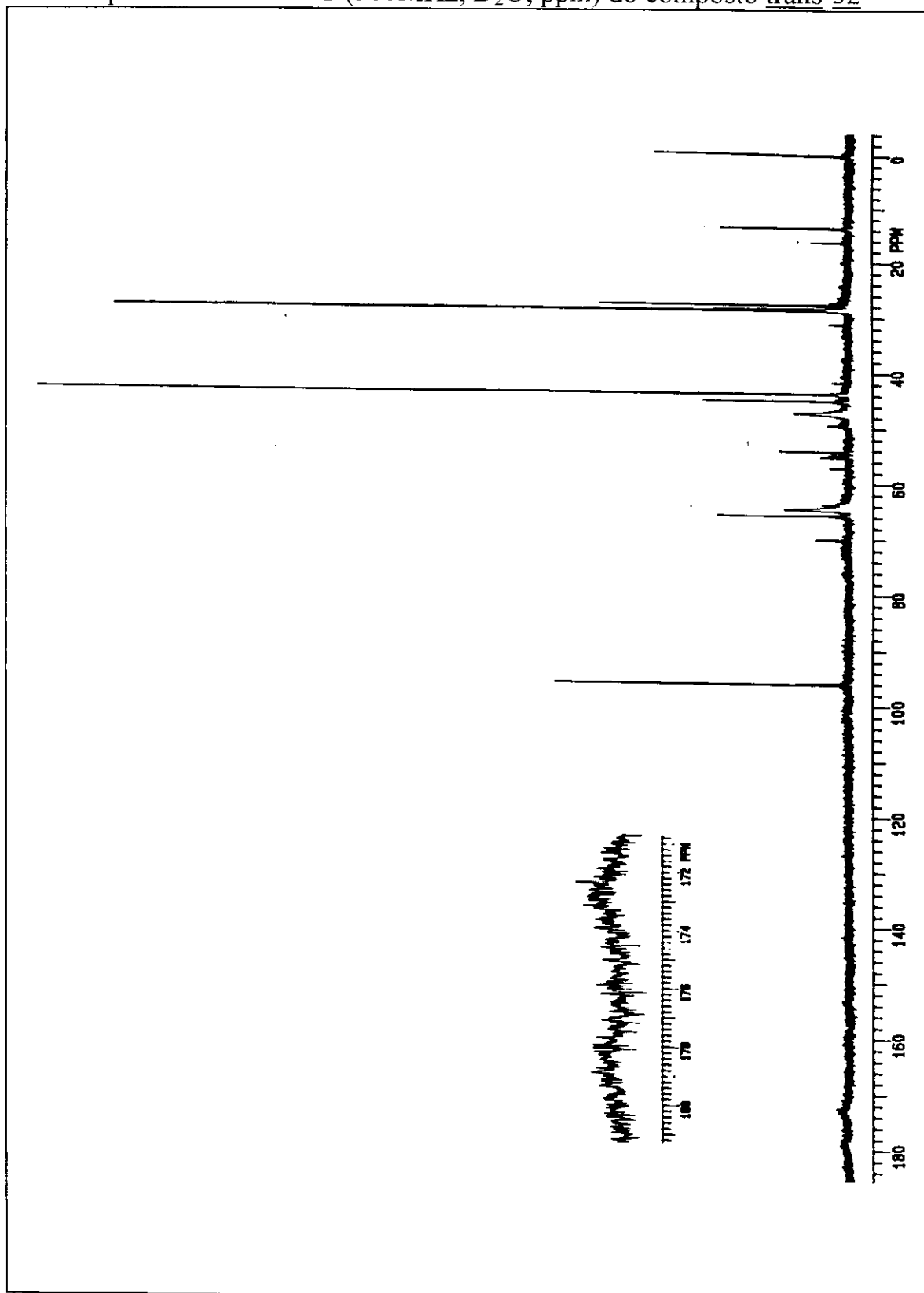
Espectro de Massa do composto trans-32



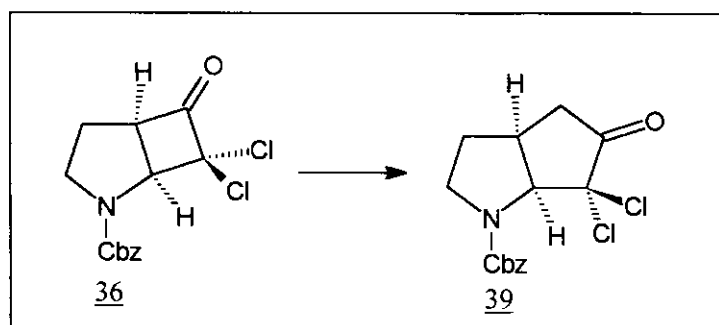
Espectro de RMN ^1H (300MHz, D_2O , ppm) do composto trans-32

Espectro de RMN ^1H (300MHz, D_2O , ppm) do composto trans-32



Espectro de RMN ^{13}C (300MHz, D_2O , ppm) do composto trans-32

3.8- SÍNTESE DA N-(BENZILOXICARBONIL)-6,6-DICLORO-2-AZABICICLO-[3.3.0]-OCTAN-7-ONA 39.



Sobre uma solução da α,α -diclorociclobutanona 36 (0,094g; 0,3mmoles, em 0,5ml de éter etílico) sem agitação magnética e a temperatura ambiente foi adicionado uma solução etérea de diazometano 0,22M (2,25ml; 0,45mmoles), (ocorreu um leve desprendimento de nitrogênio). Em seguida foi adicionado 0,08ml de metanol, provocando uma brusca liberação de nitrogênio. Análise em CCF (hexano/acetato de etila 30%) demonstrou o surgimento de um composto mais polar que o material de partida. Após 45 minutos o excesso de diazometano foi eliminado com a adição de poucas gotas de ácido acético.

A solução reacional foi vertida para um funil de separação contendo 10ml de salmoura e extraída com éter etílico (3x 10ml), a fase orgânica combinada foi seca com sulfato de sódio anidro.

Após filtração e remoção do solvente sob vácuo obteve-se um óleo amarelo correspondendo a 0,08g (80% de rendimento "bruto"), sendo caracterizado como a α,α -diclorociclopentanona 39.

A purificação da α,α -diclorociclopentanona 39 não foi possível através de cromatografia devido a sua instabilidade nos suportes utilizados (sílica gel, alumina neutra, alumina básica). Sendo utilizada em reações posteriores sem purificação prévia.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS:

RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , 295K, ppm):

1,62-1,80 (1H, m); 2,12-2,28 (1H, m); 2,45-2,52 (1H, dd, $J=2,7$ e $19,0$); 2,83-2,94 (1H, m); 3,03-3,14 (1H, m); 3,54-3,75 (2H, m); 4,77-4,88 (1H, d, m); 5,20-5,27 (2H, m); 7,33-7,42 (5H, m).

RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , 333K, ppm):

1,66-1,73 (1H, m); 2,11-2,24 (1H, m); 2,41-2,48 (1H, dd, $J=3,0$ e $J=18,8$ Hz); 2,82-2,93 (1H, dd, $J=9,2$ e $19,0$); 2,97-3,12 (1H, m); 3,52-3,61 (1H, m); 3,64-3,75 (1H, m); 4,81 (1H, d, $J=8,1$ Hz); 5,20 (2H, d, $J=2,2$ Hz); 7,25-7,40 (5H, m).

RMN ^{13}C (300MHz, CDCl_3 , 333K, ppm):

37,3 (CH_2); 47,3 (CH_2); 67,4 (CH_2); 67,7 (CH_2); 71,2 (CH); 85,3 (Cl-C-Cl); 127,8 (CH aromático); 128,1 (CH aromático); 128,4 (CH aromático); 138,3 (C aromático); 155,0 ($\text{C}=\text{O}$); 200,9 ($\text{C}=\text{O}$).

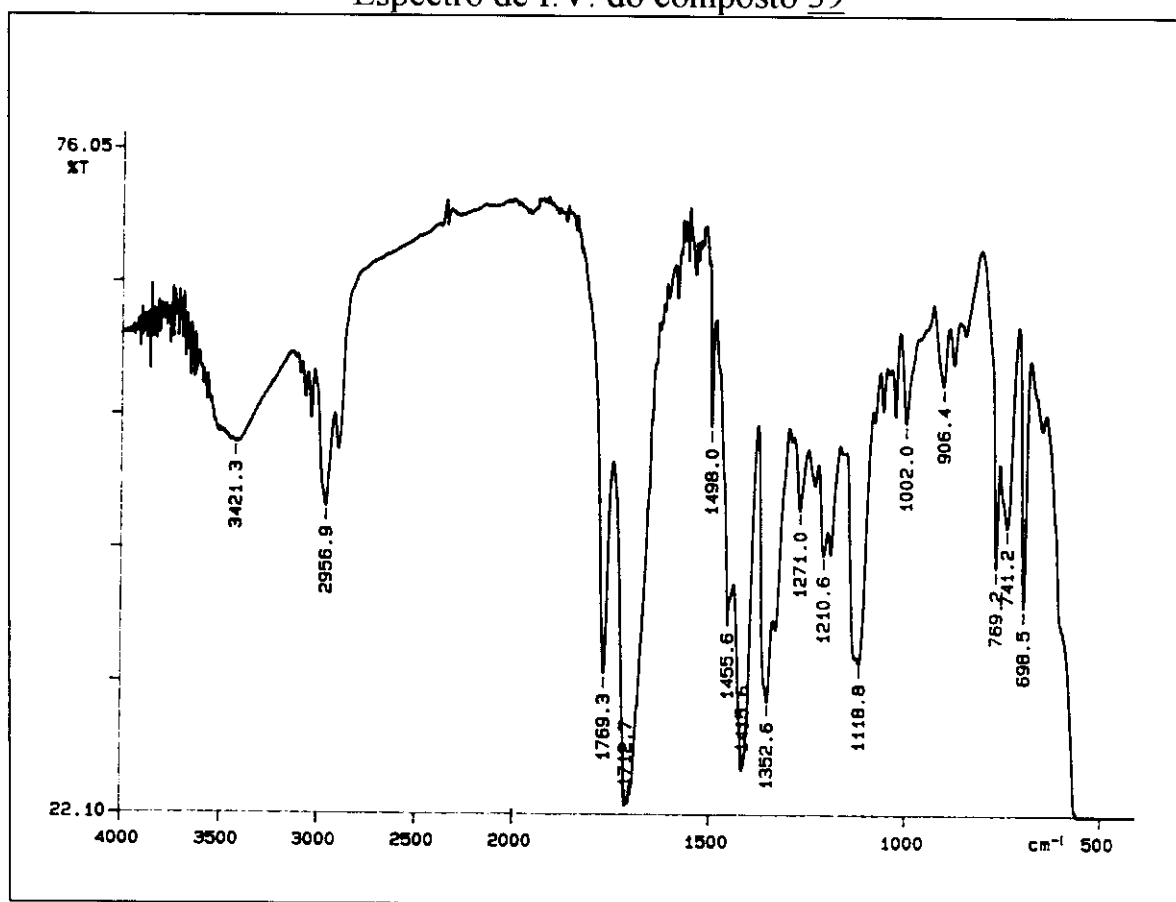
I.V. (filme, cm^{-1})

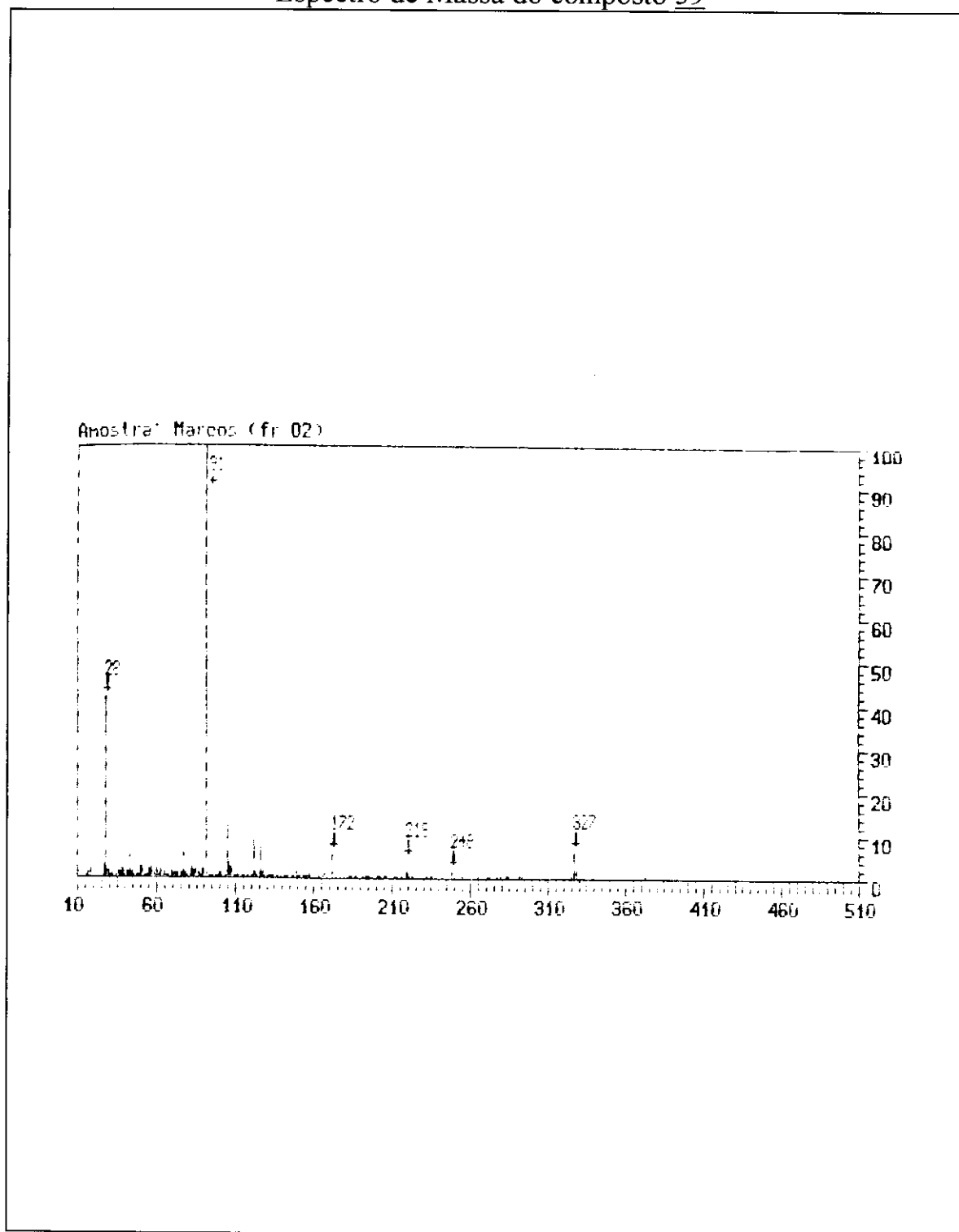
1769, 1712, 1415, 1352, 1118, 769, 698

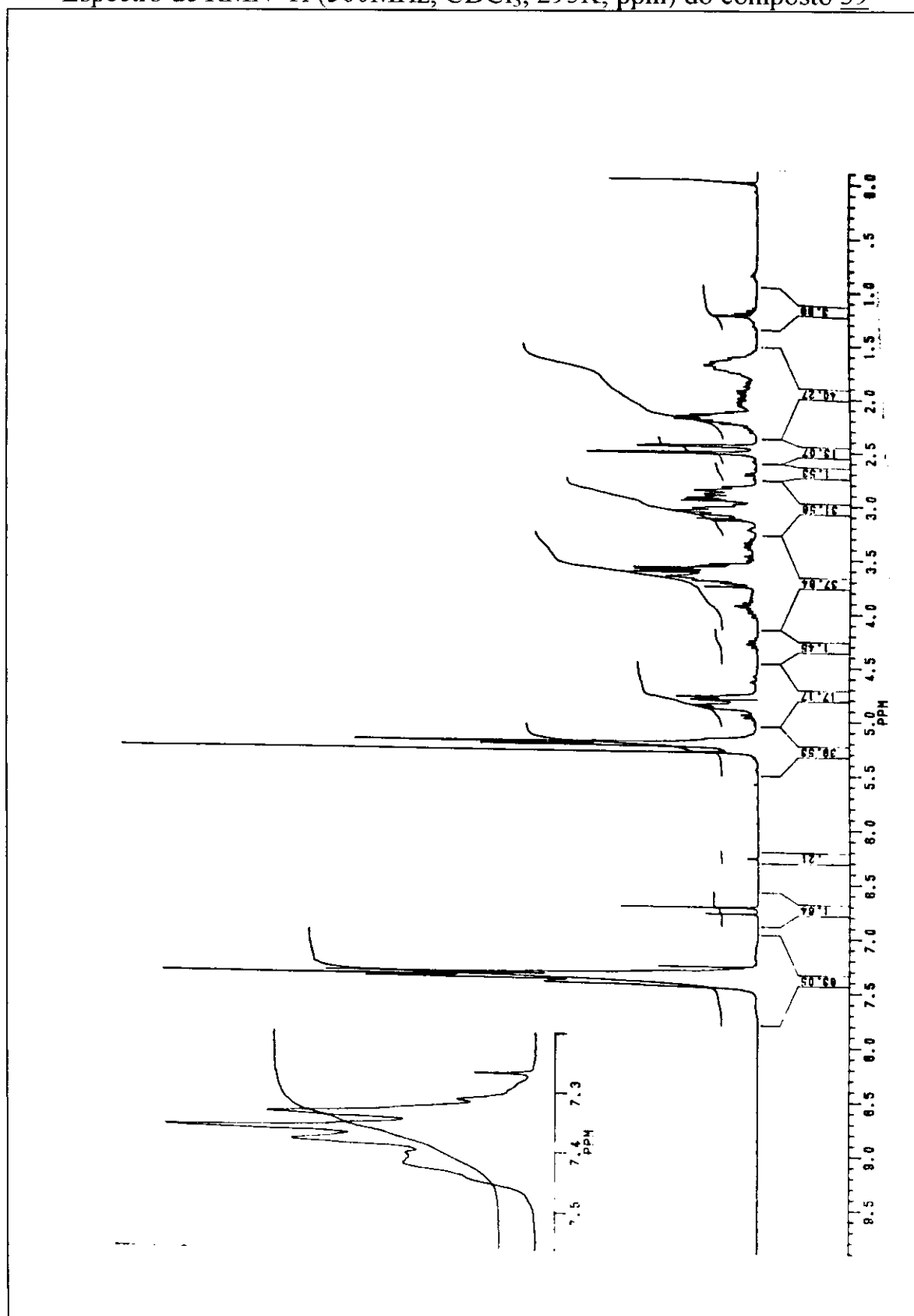
E.M. (M/Z, abundância relativa):

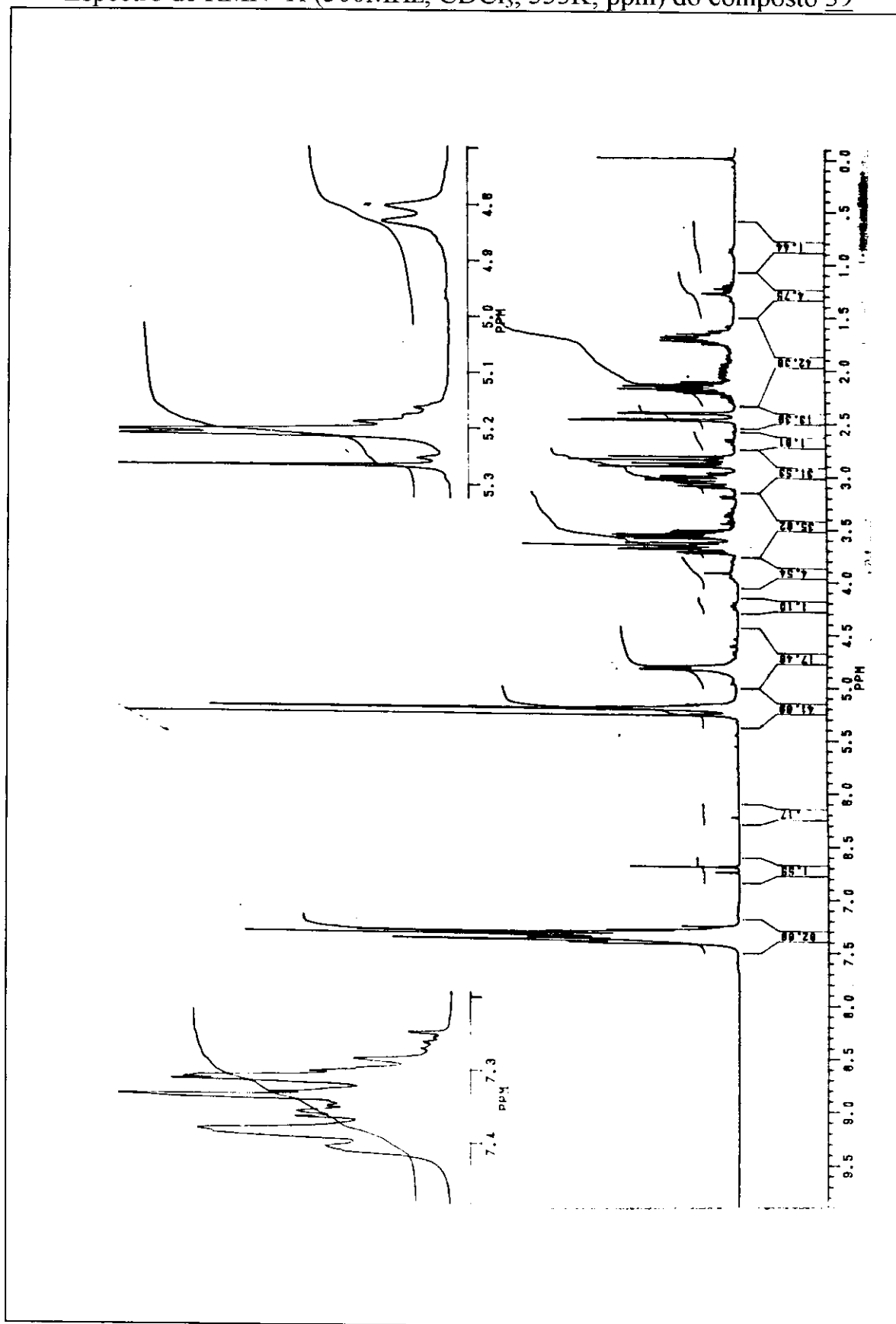
329(M+1); 327(5,9); 219(3,8); 172(5,7); 126(6,8); 91(100); 28(41,3).

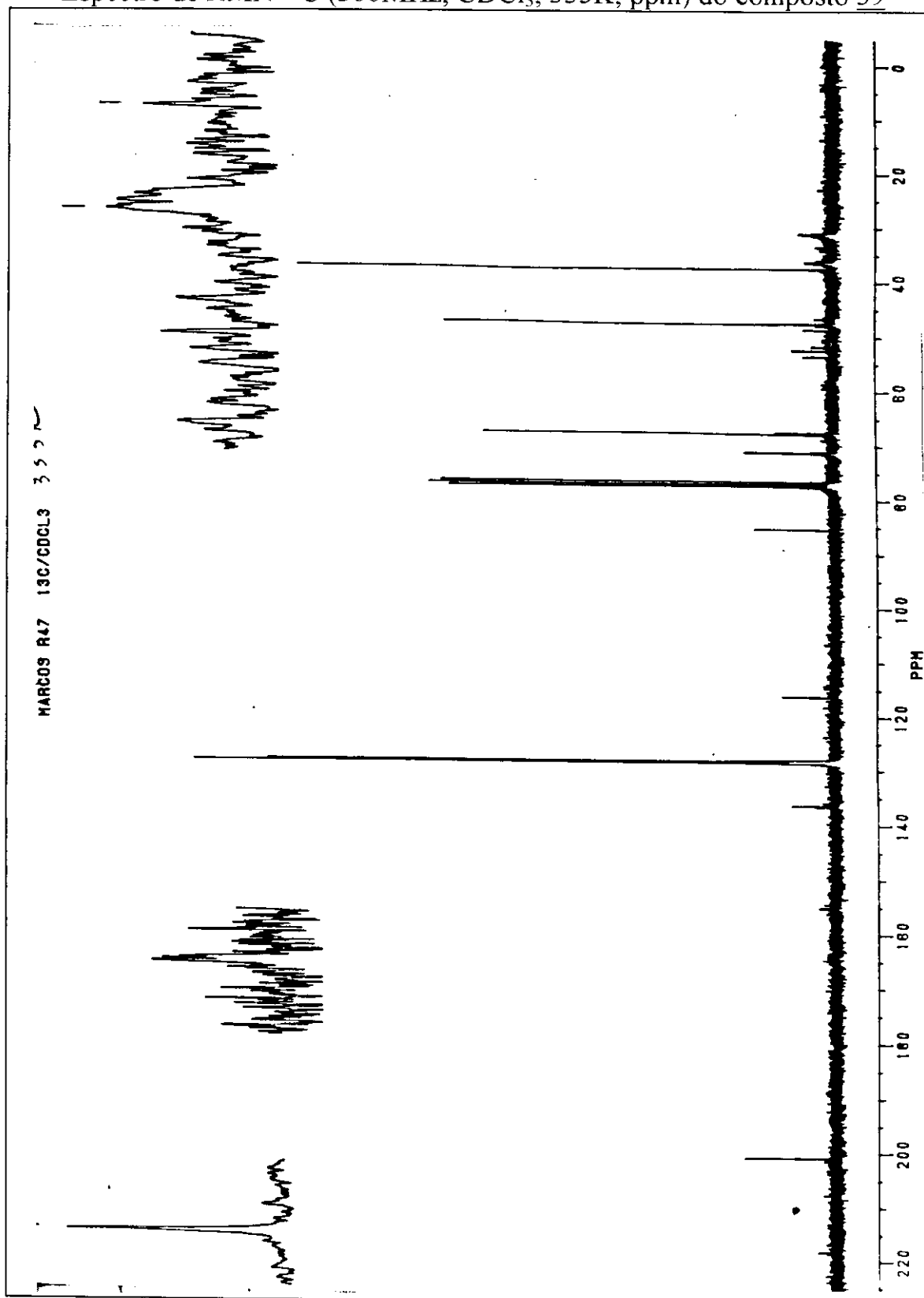
Espectro de I.V. do composto 39



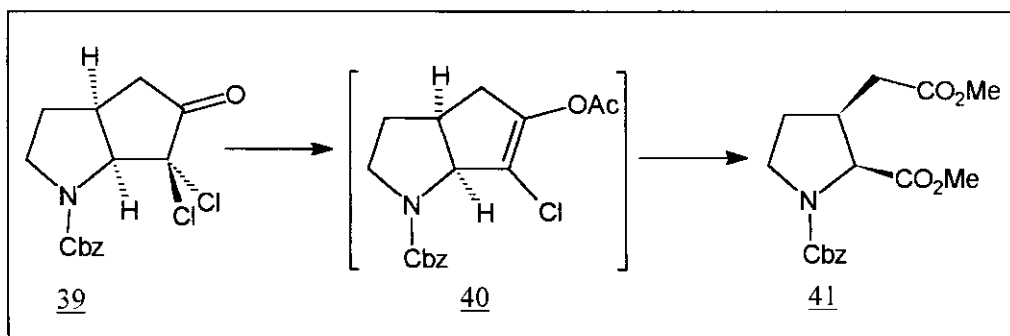
Espectro de Massa do composto 39

Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , 295K, ppm) do composto 39

Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , 333K, ppm) do composto 39

Espectro de RMN ^{13}C (300MHz, CDCl_3 , 333K, ppm) do composto 39

3.9- SÍNTESE DA CIS-DIMETIL-N-(BENZILOXICARBONIL)-2-CARBOXI-3-CARBOXIMETIL-PIRROLIDINA 41 .



Sobre uma solução heterogênea de iodeto de cobre (0,14g; 0,7mmoles, em 3ml de THF), a -20 °C foi adicionado pelo período de 2 minutos uma solução etérea de metilítio 0,65M (2,2ml; 1,4mmoles). Então a temperatura reacional foi elevada a 0 °C e em seguida reduzida a -50 °C. Sobre esta solução foi adicionado pelo período de 2 minutos uma solução da α,α -diclorociclopentanona 39 (0,095g; 0,29mmoles dissolvidos em 1ml de THF). Após 50 minutos, adicionou-se anidrido acético (0,3ml; 3mmoles) e a mistura reacional foi deixada vir a temperatura ambiente, permanecendo em agitação por 3 horas.

Após este período a mistura reacional foi vertida para um funil de separação contendo 30ml de uma solução aquosa $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$ (pH~8) e então extraída com hexano/éter etílico 1:1 (2x 15ml). A fase orgânica combinada foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente removido sob vácuo, fornecendo um óleo alaranjado (enolacetato 40).

A análise em CCF apresentou um composto majoritário ($R_f=0,18$ hexano/acetato de etila 20%). O enolacetato 40 foi levado diretamente para a ozonólise sem purificação, devido a sua instabilidade.

Sobre uma solução do enolacetato 40 (em 2ml de CH_2Cl_2 e 1ml de MeOH) a -78 °C foi passado ozônio até coloração azul do meio reacional. Em seguida borbulhou-se argônio para eliminação do ozônio em excesso (coloração incolor do meio reacional) e adicionou-se dimetilsulfeto (0,2ml; 2,7mmoles), (tornando amarela a coloração do meio reacional), permanendo em agitação pendente por 12 horas a temperatura ambiente.

Após este período o solvente foi evaporado sob vácuo e dissolvido em 1ml de éter etílico/metanol 1:1. Sobre esta solução a 0 °C foi adicionado um excesso de diazometano, indicado pela coloração amarela do meio reacional. Após 10 minutos o diazometano em excesso foi destruído com poucas gotas de ácido acético e o solvente evaporado sob vácuo. O resíduo resultante foi purificado em coluna cromatográfica “flash” (sílica-gel, hexano/acetato de

etila 35%) fornecendo 0,06g (60% rendimento) de um óleo amarelo pálido caracterizado como o diéster 41 ($R_f=0,22$ hexano/acetato de etila 30%).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS: Os sinais estão duplicados nos espectro de RMN ^1H e RMN ^{13}C devido a presença de rotâmeros.

RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , ppm):

1,66-1,88 e 1,93-2,18 (2H, m, C(4)); 2,25-2,46 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-CO}_2\text{Me}$); 2,78-2,97 (1H, m, C(3)); 3,36-3,50 e 3,67-3,80 (2H, m, C(5)); 3,57, 3,74 e 3,77 (6H, s, CO_2CH_3); 4,48 (1H, t, $J=8,78$ e $8,71\text{Hz}$, C(2)); 4,99-5,20 (2H, m, CH_2Ph); 7,26-7,36 (5H, m, Ar).

RMN ^{13}C (300MHz, CDCl_3 , ppm):

28,7 e 29,6 (CH_2); 34,6 (CH_2); 37,6 e 38,5 (CH); 45,7 e 46,0 (CH_2); 51,8 , 51,82 e 51,91 (2x OCH_3); 61,4 e 61,7 (NCH); 66,9 e 67,0 (CH_2Ph); 127,7 e 127,8 (CH aromático); 127,9 e 128,0 (CH aromático); 128,4 e 128,5 (CH aromático); 136,5 e 136,6 (C aromático); 154,1 e 154,72 (C=O); 171,6 e 171,7 (C=O).

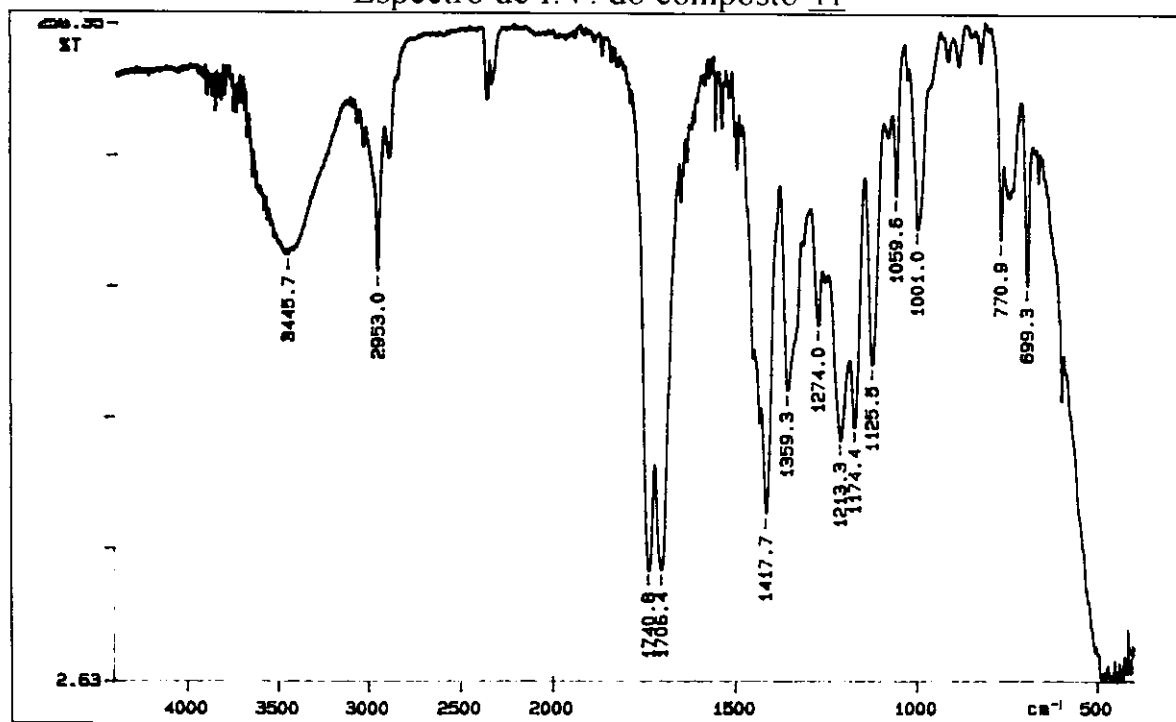
I.V. (filme, cm^{-1})

1740, 1706, 1417, 1359, 1213, 1174, 1125, 770, 699

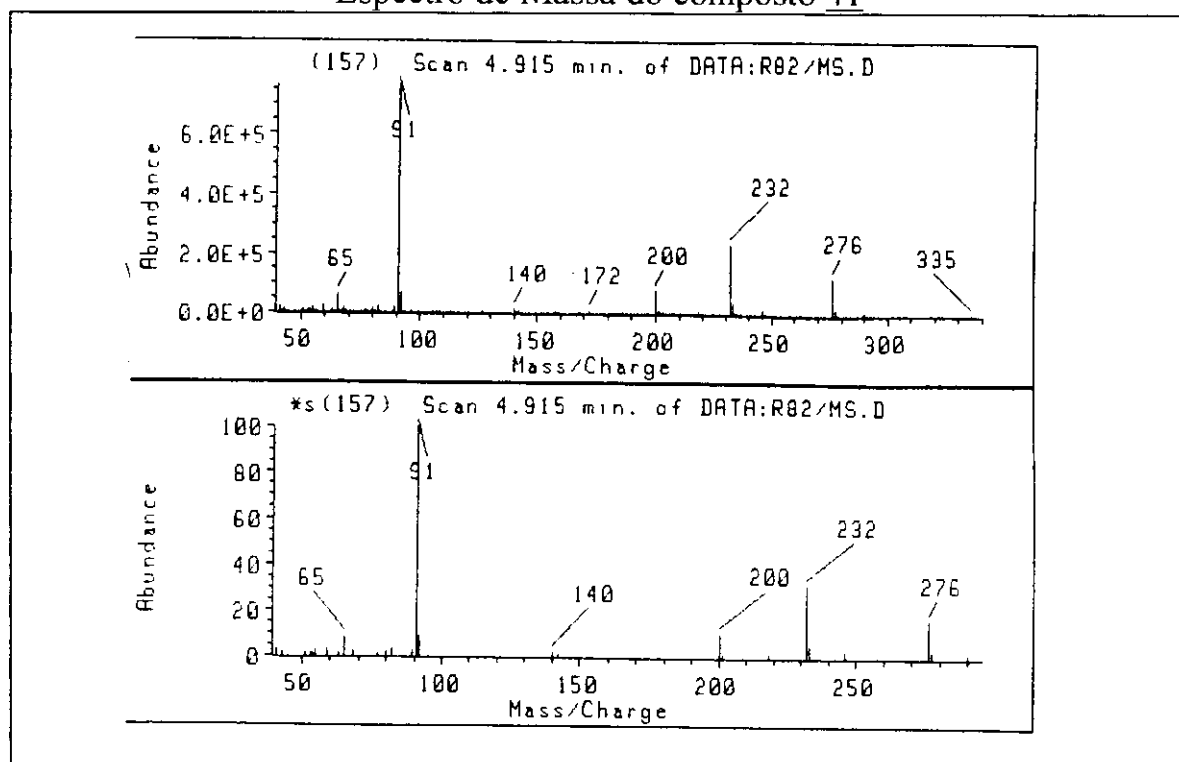
E.M. (70 eV, M/Z, abundância relativa)

335(M^+), 276(20), 232(30), 200(10), 91(100), 65(5)

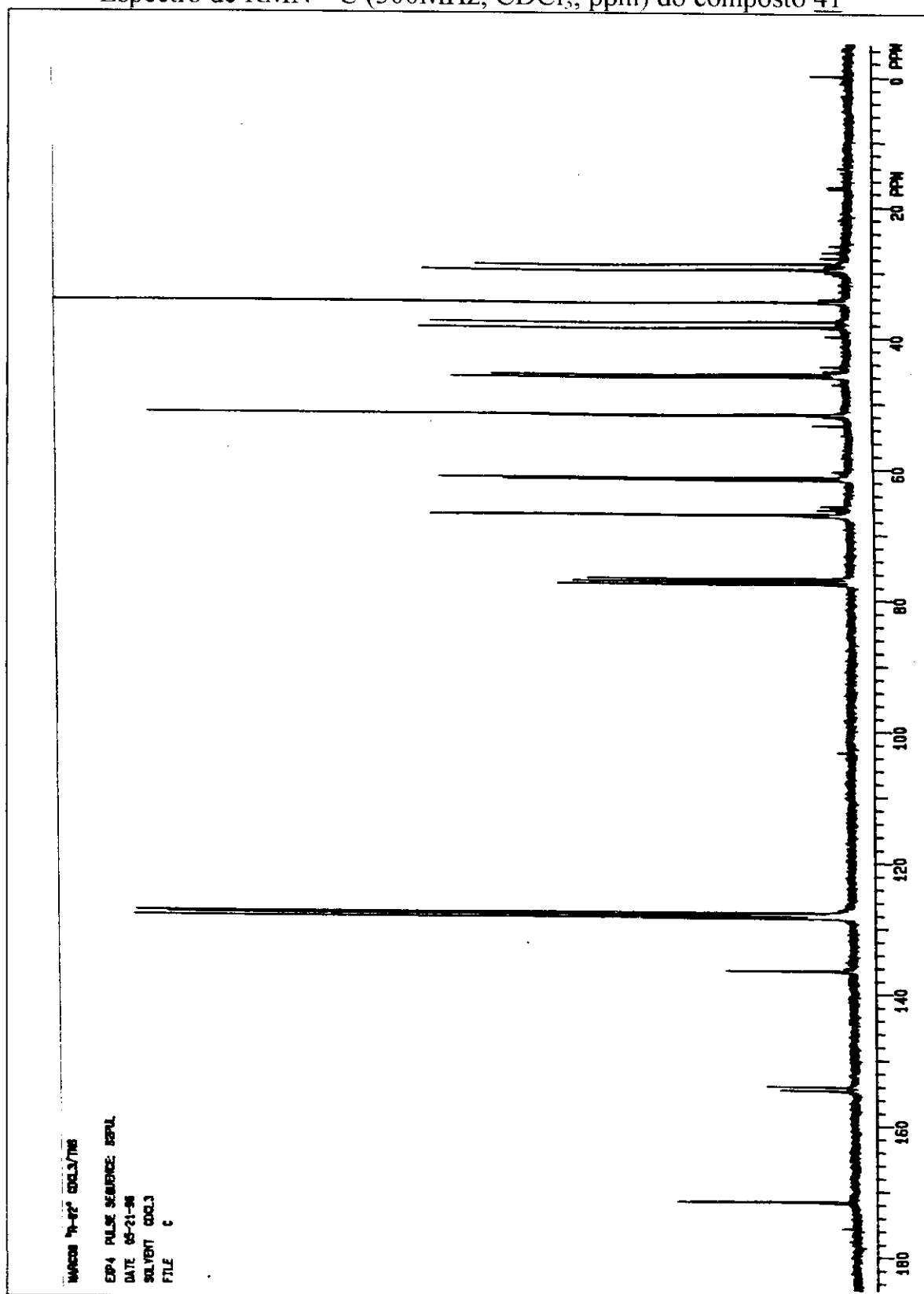
Espectro de I.V. do composto 41



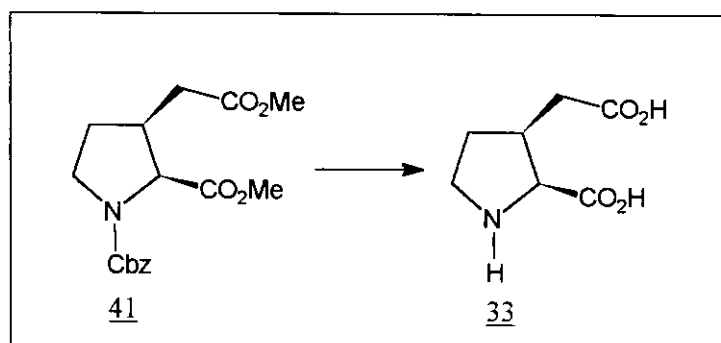
Espectro de Massa do composto 41





Espectro de RMN ^{13}C (300MHz, CDCl_3 , ppm) do composto 41

3.10- SÍNTESE DA CIS 2-CARBOXI-3-CARBOXIMETIL-PIRROLIDINA 33



A uma solução do diéster 41 (0,02, 0,05 mmoles, em 2ml de metanol), foi adicionado hidróxido de paládio sob carvão 20% (2mg). Esta solução foi saturada com hidrogênio pelo período de 30 minutos, permanecendo por 12 horas sob atmosfera de hidrogênio a temperatura ambiente.

Após filtração e remoção do solvente sob vácuo, resultou um óleo incolor que foi dissolvido em 1ml de ácido clorídrico 6M e aquecido a 70 °C por 12 horas. Após este período o solvente foi removido sob vácuo e o bruto resultante foi purificado através de cromatografia de troca iônica (Dowex 50x8 (200-400 mesh), altura 2cm e largura 1cm), eluído com água (20ml) e hidróxido de amônia 3M (20ml). As frações que se revelaram positivas na presença de ninidrina (coloração amarela), foram aquecidas a ebulição por 30 minutos em carvão ativo. Após filtração, o filtrado foi liofilizado fornecendo 0,01g (80% de rendimento) de um óleo levemente amarelo, caracterizado como a cis-2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina 33.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS:

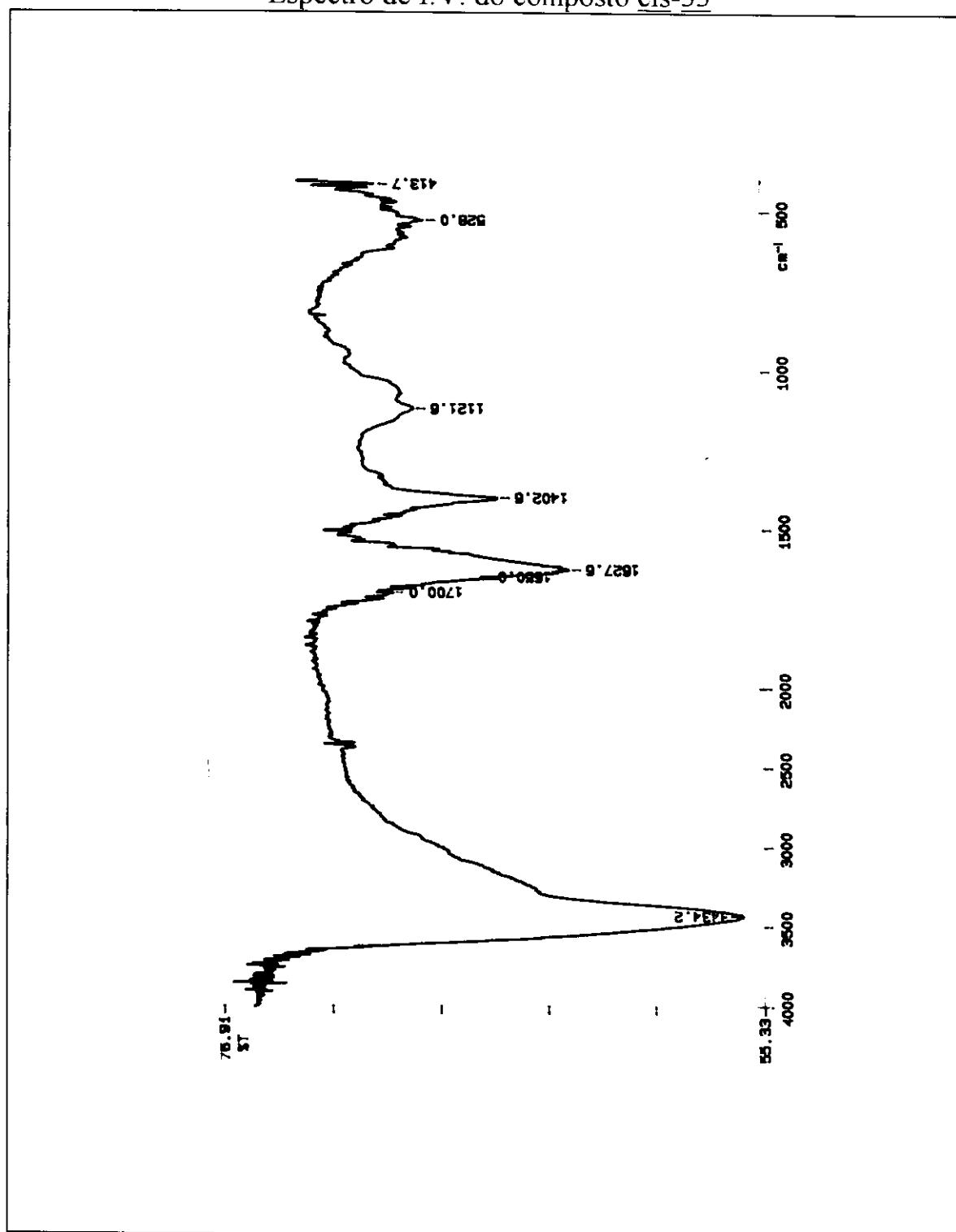
I.V. (patilha de KBr, cm^{-1}):
3434, 1650, 1627, 1402, 1121, 528

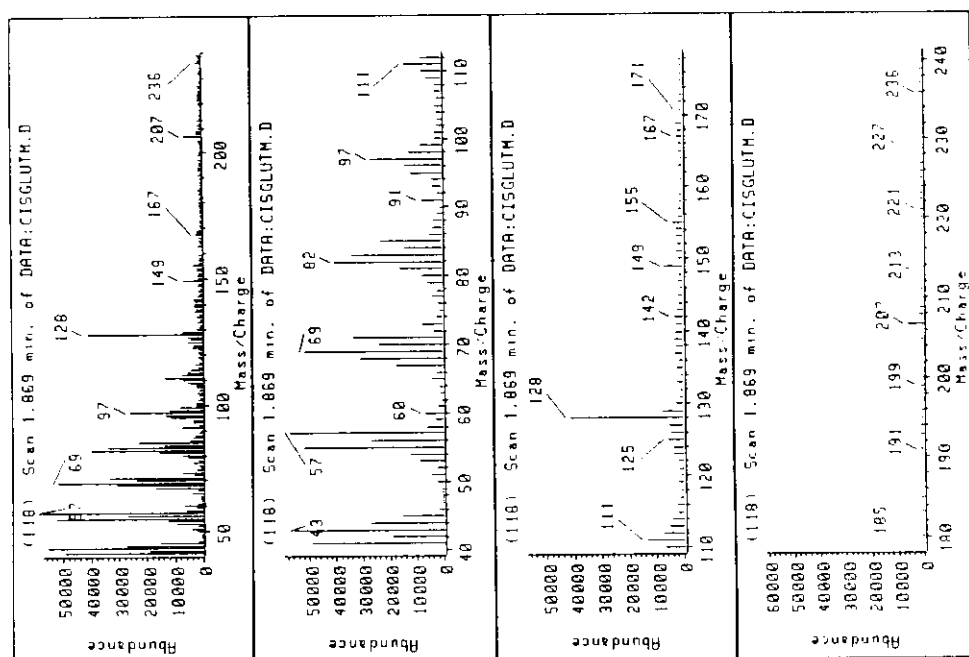
RMN ^1H (300MHz, D_2O , ppm):
1,62-1,66 (1H, m, H_4); 1,90 (1H, dd, $J=11,5$ e $15,01\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$); 2,00-2,11 (1H, m, H_4); 2,27 (1H, dd, $J=4,39$ e $15,01$, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$); 2,69-2,77 (1H, m, H_3); 3,10-3,19 (1H, m, H_5); 3,31-3,47 (1H, m, H_5); 3,97 (1H, d, $J=8,1\text{Hz}$, H_2).

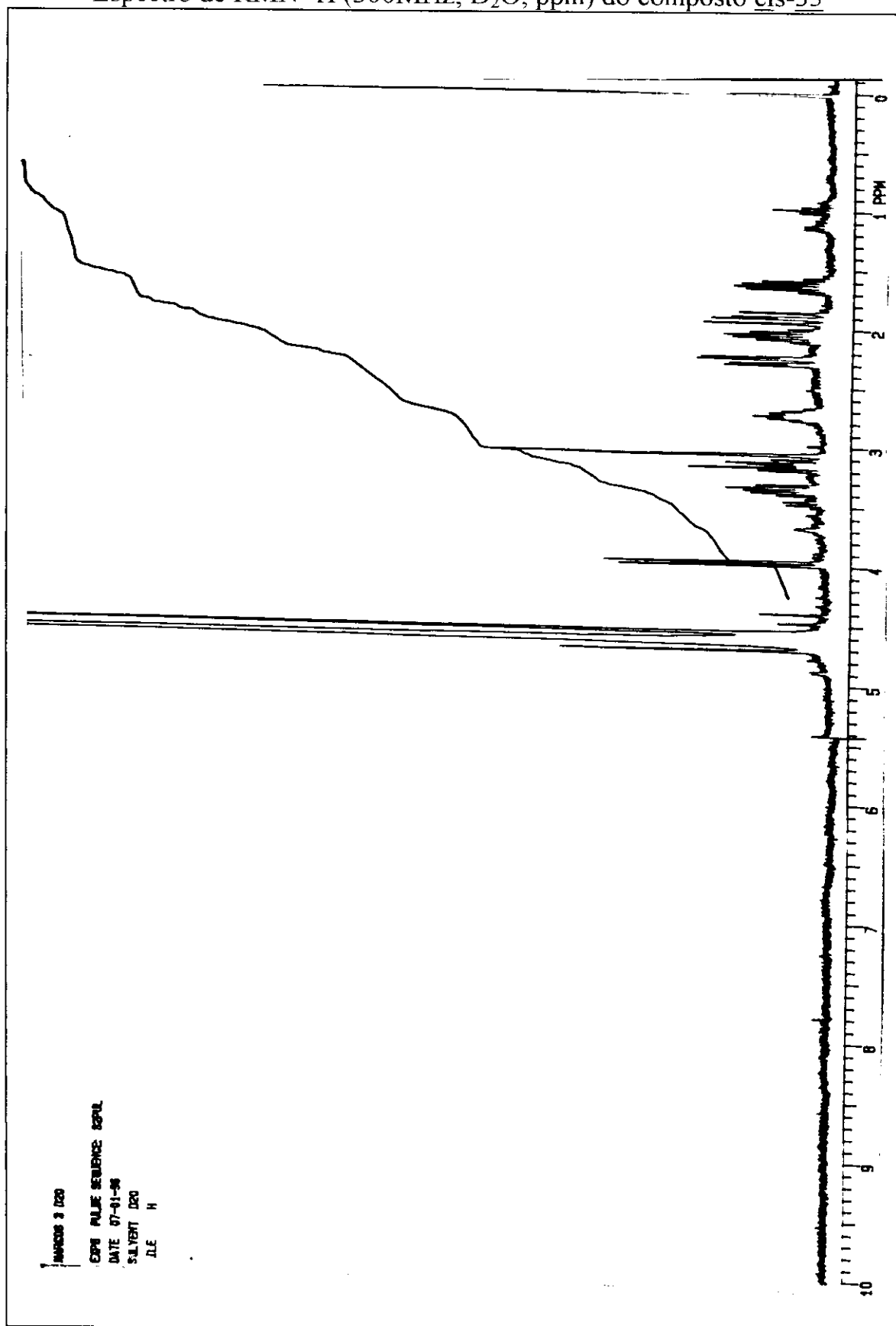
RMN ^{13}C (300MHz, D_2O , ppm):
28,8 (CH_2); 36,8 (CH_2); 37,0(CH); 43,9 (CH_2); 63,9 (CH).

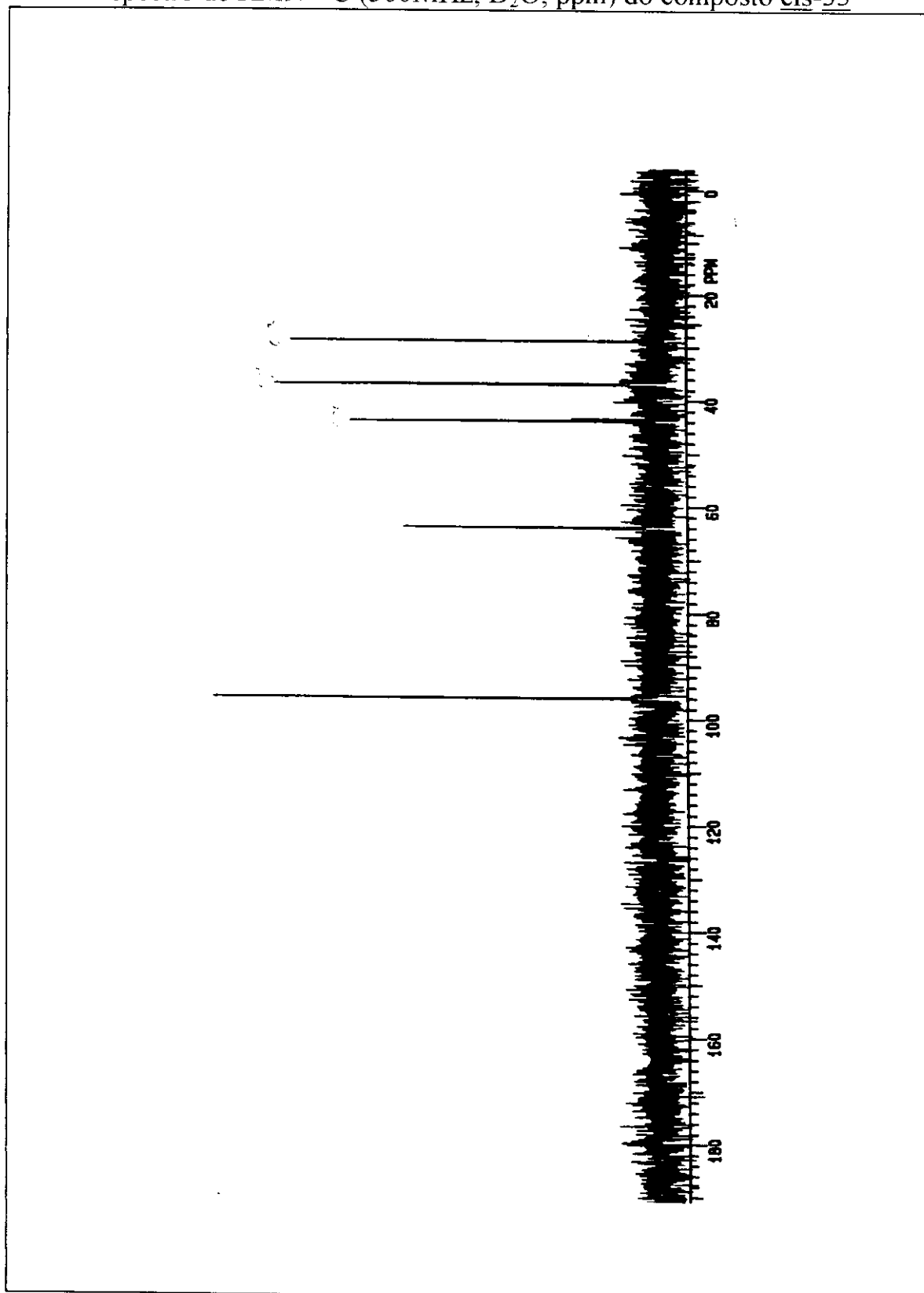
E.M. (m/z, abundância relativa):
155(5), 128(70), 111(20), 82(80), 69(90), 57(100)

Espectro de I.V. do composto cis-33

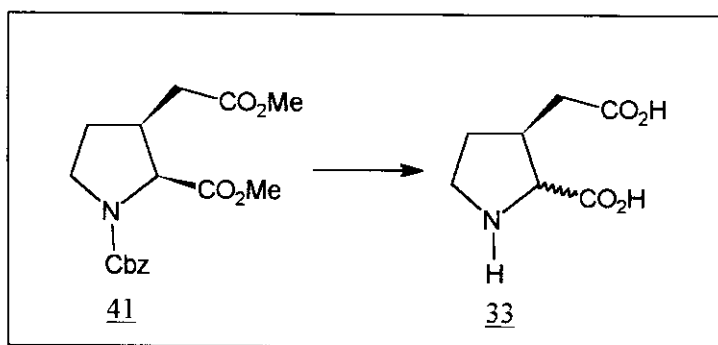


Espectro de Massa do composto cis-33

Espectro de RMN ^1H (300MHz, D_2O , ppm) do composto cis-33

Espectro de RMN ^{13}C (300MHz, D_2O , ppm) do composto cis-33

3.11- SÍNTESE DA CIS E TRANS-2-CARBOXI-3-CARBOXIMETIL-PIRROLIDINA 33.



A uma solução do diéster 41 (0,05g; 0,15mmoles, em 10ml de metanol), foi adicionado hidróxido de paládio 20% (0,006g), e em seguida borbuhlado hidrogênio pelo período de 30 minutos, e mantida esta solução sob atmosfera de hidrogênio por 12 horas a temperatura ambiente. Após filtração e remoção do solvente a vácuo foi adicionado 4ml de NaOH 10% sobre o óleo resultante e a solução aquecida a refluxo pelo período de 12 horas.

Após este período a solução foi acidificada a pH~3 com HCl 10% e evaporada sob vácuo. O resíduo resultante dissolvido em água foi purificado por cromatografia de troca iônica (Dowex 50x8, 200-400mesh, altura 8cm e largura 0,5cm). Eeluido inicialmente com 20ml de água e 30ml de hidróxido de amônia 3M.

As frações que se revelaram positivas em ninidrina (coloração amarela) foram combinadas e aquecidas a ebulição por 30 minutos sob carvão ativo. Após filtração, o filtrado foi liofilizado resultando 0,02g (69% de rendimento) de um óleo incolor caracterizado como uma mistura da cis e trans-2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina 33.

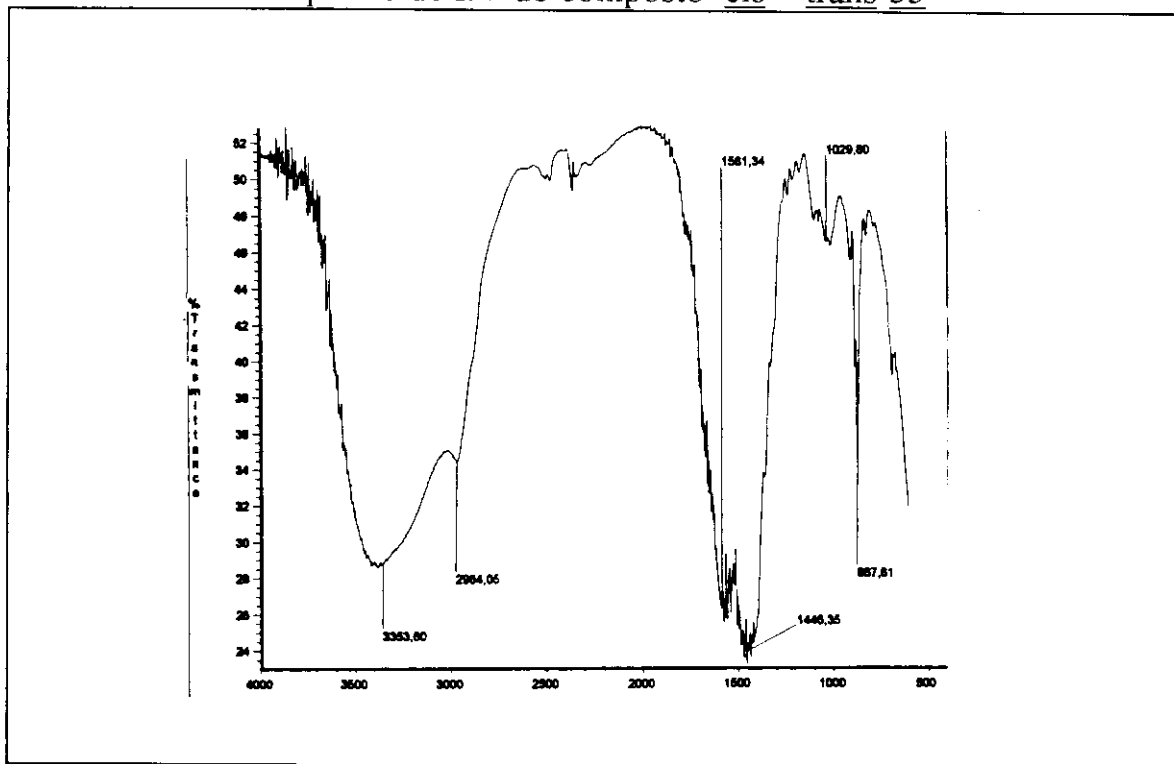
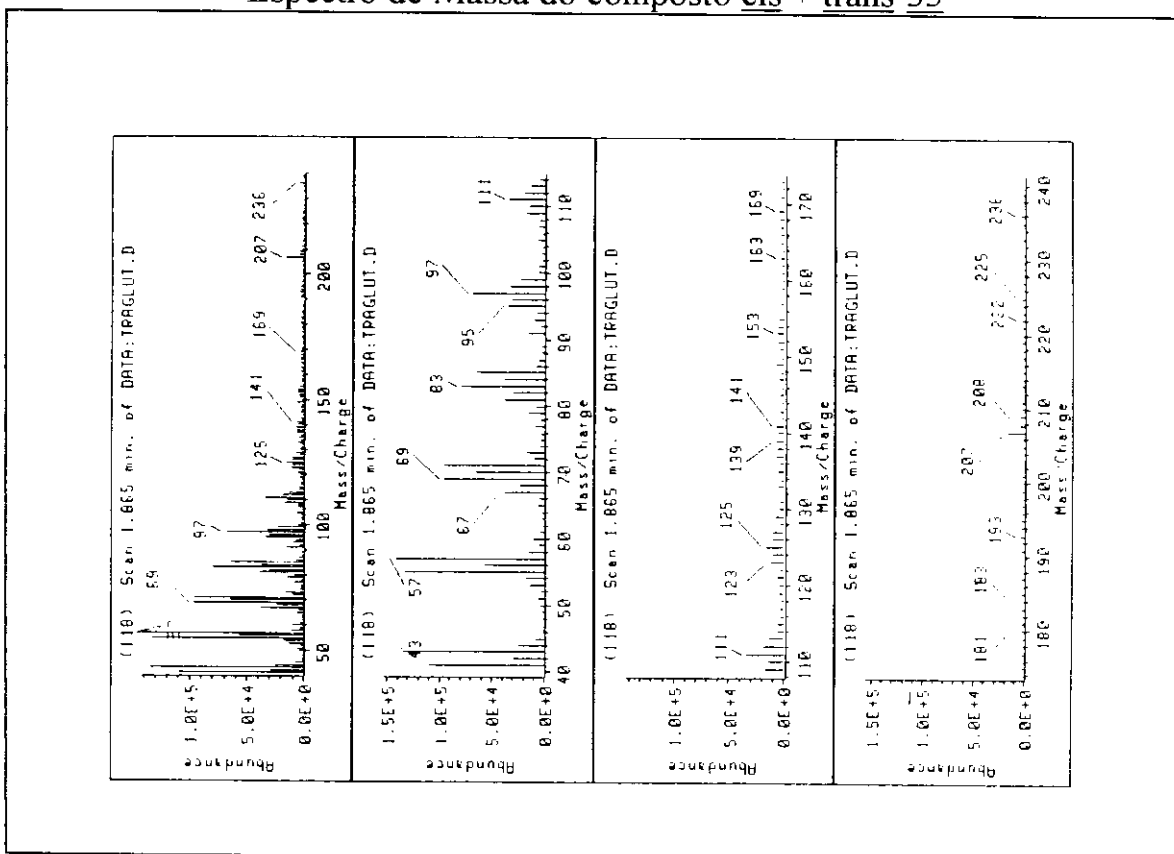
DADOS ESPECTROMÉTRICOS:

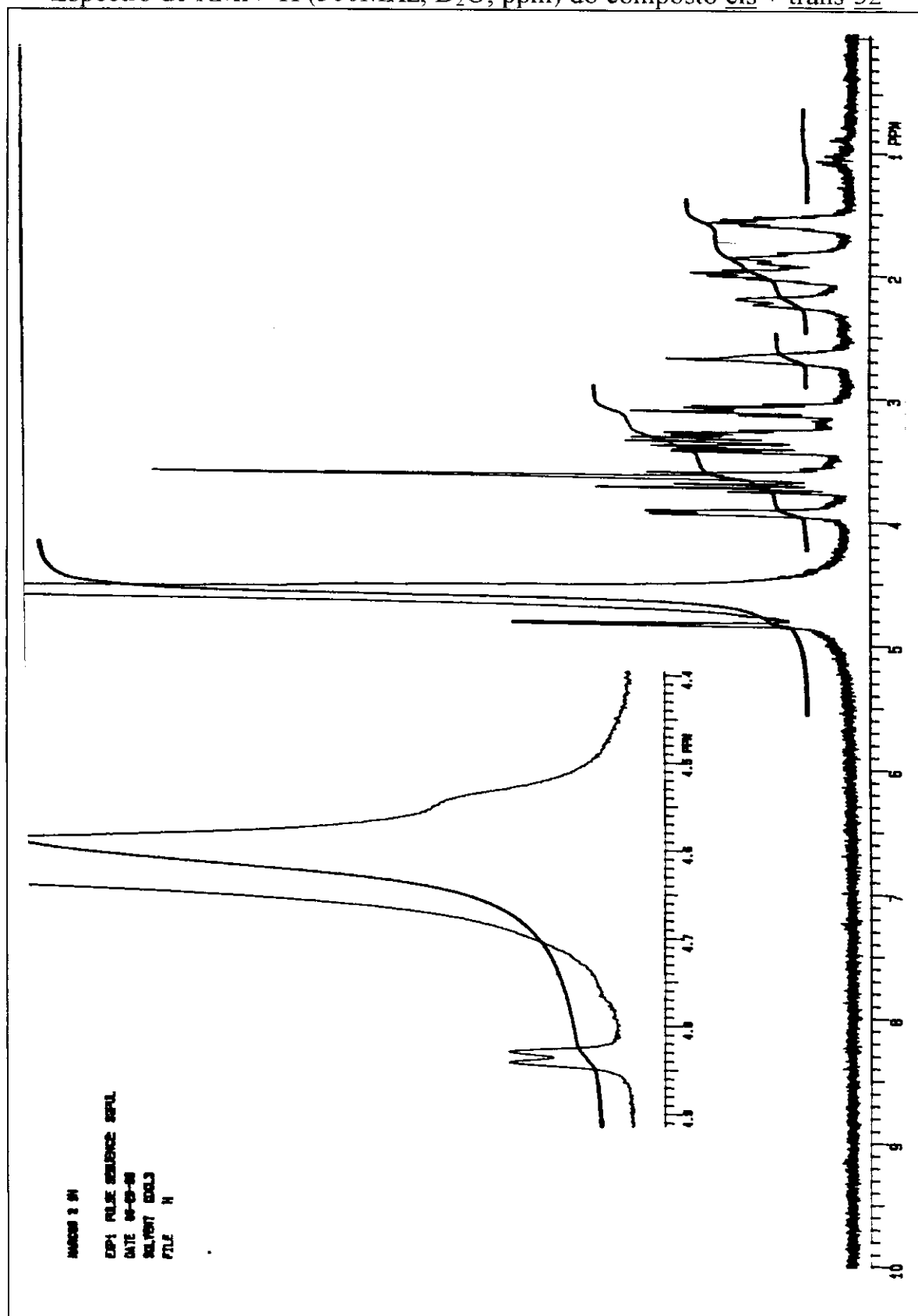
* Os espectros apresentam uma mistura dos isômeros cis e trans

I.V. (patilha de KBr, cm^{-1}):
3353, 2964, 1581, 1446, 1029, 867

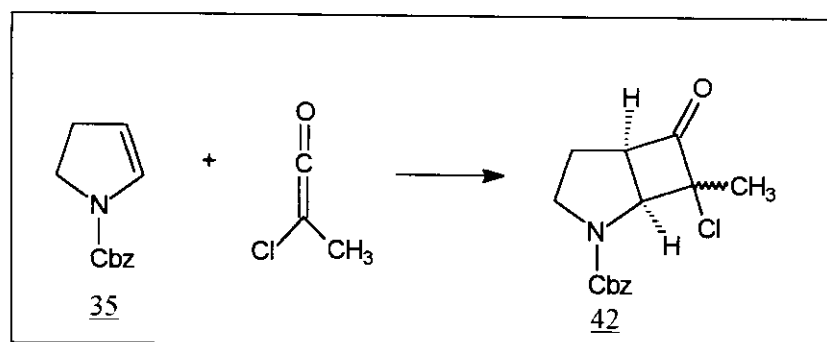
RMN ^1H (300MHz, D_2O , ppm):
1,50-1,67 (1H, m); 1,83-2,08 (2H, m); 2,12-2,18 (1H, m); 2,65-3,10 (1H, m);
3,23-3,47 (1H, m); 3,54-3,75 (1H, m); 3,92 e 4,83 (1H, d, $J=7,6$ e $3,7\text{Hz}$).

E.M. (M/Z, abundância relativa):
207(10), 141(5), 111(25), 82(14), 69(50), 57(100).

Espectro de I.V do composto cis + trans-33Espectro de Massa do composto cis + trans-33



3.12- SÍNTESE DA N-(BENZILOXICARBONIL)-7,7-CLOROMETIL-2-AZA-BICICLO-[3.2.0]-HEPTAN-6-ONA 42.



Sobre uma solução do enecarbamato endocíclico 35 (0,10g; 0,49mmoles) em hexano (10ml) e trietilamina (0,17ml; 1,22mmoles), a 40 °C foi adicionado pelo período de 1 hora uma solução do cloreto de 2-cloropropionila (0,048ml; 0,50mmoles, dissolvidos em 3ml de hexano).

Logo após a adição do cloreto ocorreu a formação de um sal (cloridrato de trietilamônio), que precipitou no meio reacional. Após o término da adição foi verificado em CCF o consumo total do material de partida e o surgimento de dois produtos mais polares que o enecarbamato 35.

A suspensão foi filtrada e o sal lavado com 20ml de acetato de etila, a evaporação do filtrado sob vácuo forneceu um óleo de coloração laranja, que foi purificado em coluna cromatográfica “flash” (silica gel, hexano/acetato de etila 30%), fornecendo 0,123g (85% de rendimento), de um óleo amarelo claro caracterizado como a α,α -clorometilciclobutanona 42 endo e exo (5:1).

DADOS ESPECTOMÉTRICOS:

* Os sinais apareceram duplicados nos espectros de RMN ¹H e ¹³C, devido a presença de rotâmeros.

42-ENDO (Me):

RMN ¹H (300MHz, CDCl₃, ppm):

1,37 e 1,47 (3H, s); 1,93-2,04 (1H, m); 2,18-2,26 (1H, dd, J=7,0 e 13,4 Hz); 3,25-3,35 (1H, m); 3,90-3,99 (1H, m); 4,30-4,35 (1H, m); 4,64 e 4,70 (1H, d, J=7,4 Hz); 5,18 (2H, s); 7,33 (5H, m).

I.V. (filme, cm⁻¹):

1794, 1707, 1408, 1358, 1011, 768, 698

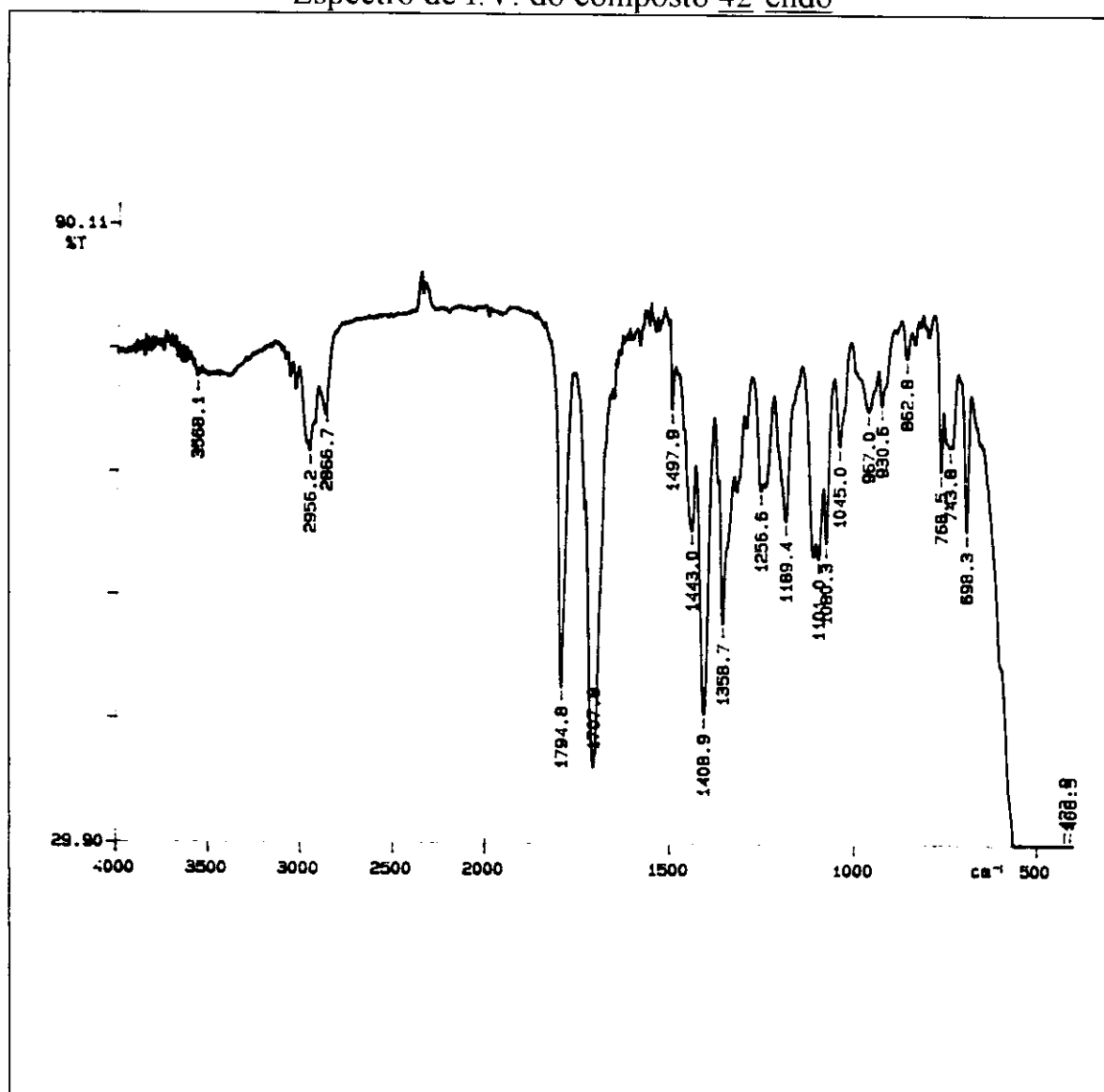
RMN ^{13}C (300MHz, CDCl_3 , ppm):
 16,7 e 16,9(CH_3), 24,8 e 25,5(CH_2), 46,9 e 47,3(CH_2), 61,1 e 62,5(CH),
 62,0 e 62,3(CH), 67,4 e 67,5(CH_2Ph), 77,3(C-Cl).

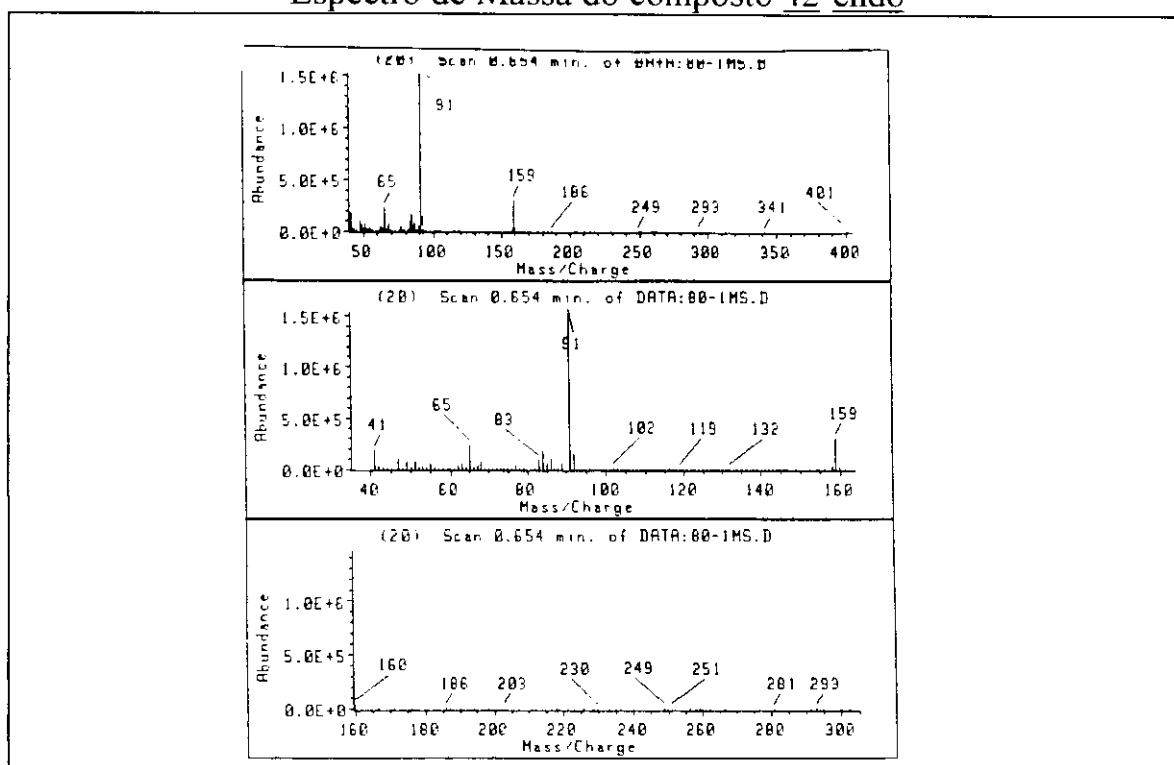
E.M.(M/Z, abundância relativa):
 293(M^+), 186(5), 159(20), 91(100), 65(15).

42 EXO (Me):

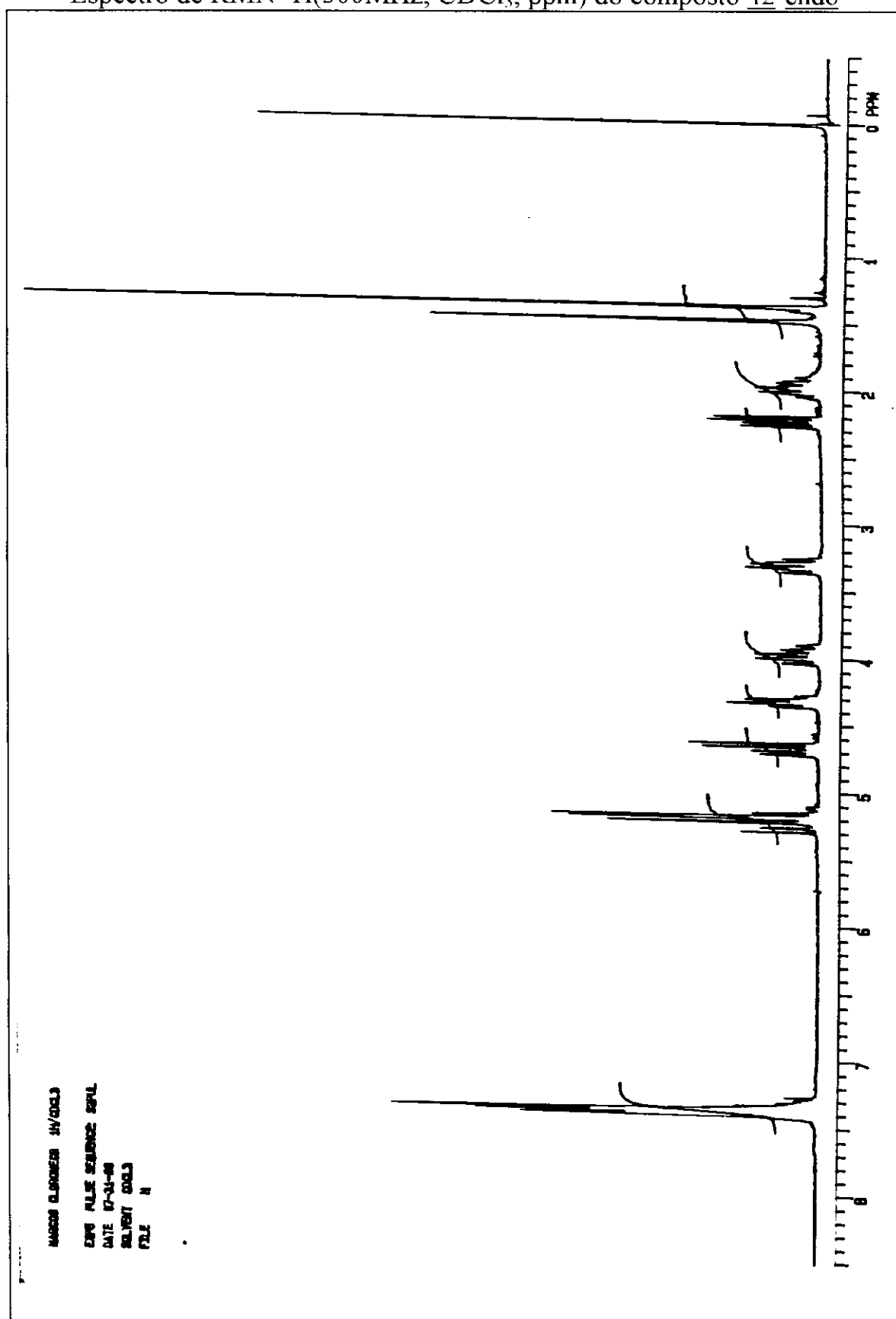
RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , ppm):
 1,70 e 1,80 (3H, s); 1,85-2,12 (1H, m); 2,20-2,30 (1H, m); 3,32-3,44 (1H, m);
 3,88-4,07 (2H, m); 4,45 e 4,63 (1H, d, $J=7,1$ Hz); 5,20 (2H, s); 7,38 (5H, m).

Espectro de I.V. do composto 42-endo

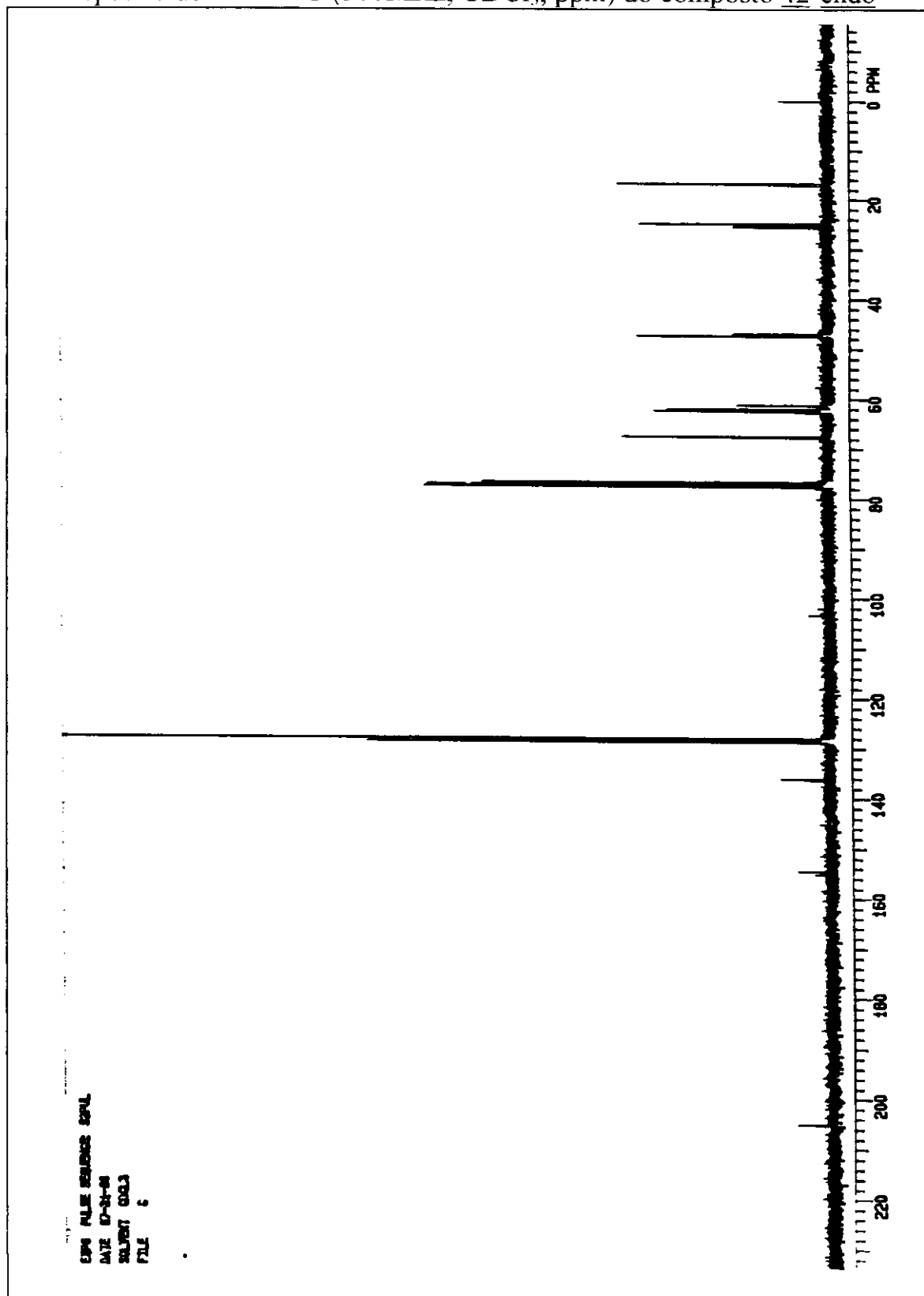


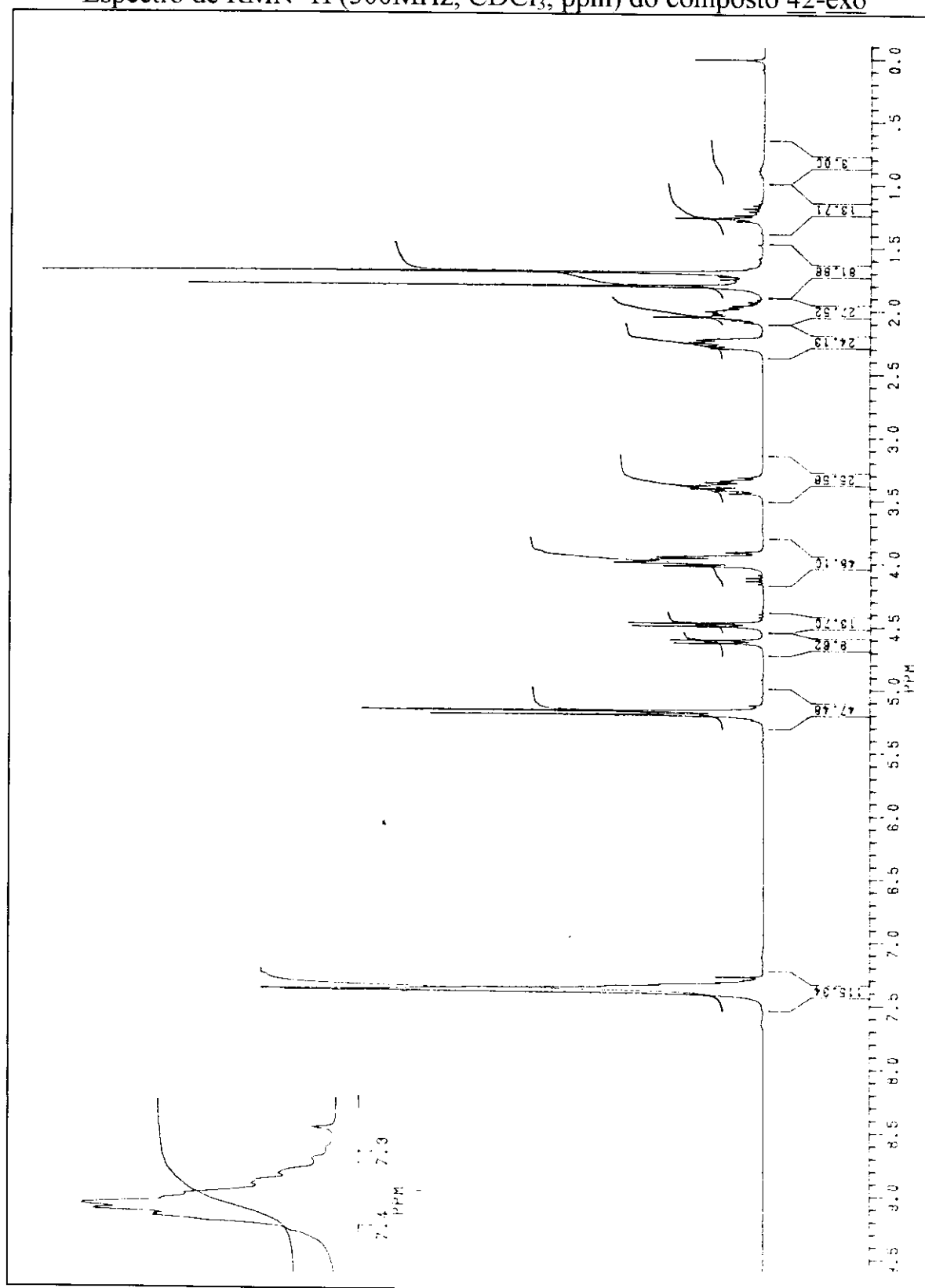
Espectro de Massa do composto 42-endo

Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , ppm) do composto 42-endo

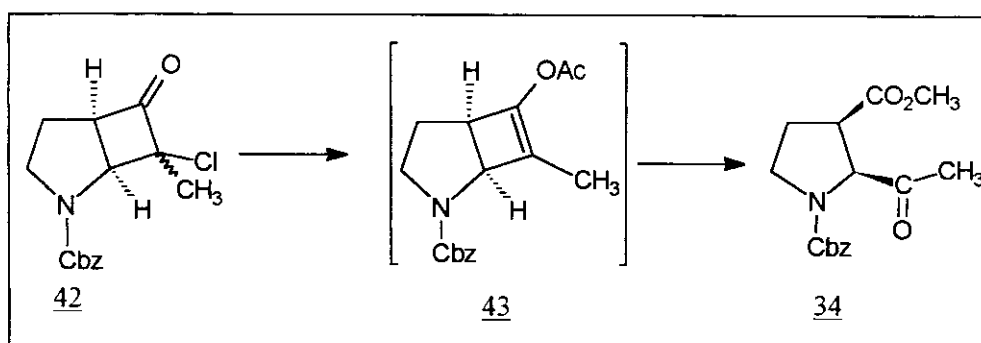


Espectro de RMN ^{13}C (300MHz, CDCl_3 , ppm) do composto 42-endo



Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , ppm) do composto 42-exo

3.13- SÍNTESE DA CIS-METIL-N-(BENZILOXICARBONIL)-2-ACETIL-3-CARBOXI-PIRROLIDINA 34.



Sobre uma solução heterogênea de iodeto de cobre (0,16g; 0,77mmoles, em 3ml de THF), a -20 °C foi adicionado pelo período de 2 minutos uma solução etérea de metilítio 0,65M (2,4ml; 1,55mmoles). A temperatura foi elevada a 0 °C e após reduzida a -50 °C. (A solução apresentou coloração amarela durante a adição do primeiro equivalente de metilítio e após a adição do segundo equivalente ficou incolor).

Sobre a solução de dimetilcuprato de lítio a -50 °C foi adicionado em 2 minutos uma solução da α,α -clorometilciclobutanona (0,08g; 0,25mmoles em 1,5ml de THF). Após 50 minutos foi adicionado anidrido acético (0,3ml; 3mmoles) sobre a solução reacional que permaneceu por 3 horas em agitação a temperatura ambiente.

Após este período foi adicionado ao bruto reacional 10ml da mistura hexano/éter etílico 1:1, formando um precipitado no balão. O sobrenadante foi recolhido e seco em sulfato de sódio anidro, esta operação foi repetida três vezes. A evaporação sob vácuo do sobrenadante combinado resultou em um óleo de coloração laranja escuro.

A análise deste óleo em CCF demonstrou o consumo total do material de partida e o surgimento de um composto majoritário mais apolar ($R_f=0,53$ hexano/acetato de etila 30%).

O enolacetato 43 gerado da maneira acima foi utilizado imediatamente sem purificação devido sua fácil decomposição.

Sobre uma solução do enolacetato 43 (dissolvido em 3ml de diclorometano e 1,5ml de metanol) a -78 °C foi borbulhado ozônio durante 1,5 horas, este período foi suficiente para consumir o material de partida, evidenciado em CCF. A visualização da coloração azul do meio reacional foi dificultada devido a coloração que apresentou o enolacetato 43 bruto.

Após este período foi borbulhado argônio sobre o meio reacional para eliminar o excesso de ozônio, seguido da adição de dimetilsulfeto (0,18ml; 2,5 mmoles), que permaneceu em agitação por 12 horas a temperatura ambiente.

Transcorrido este período o solvente foi evaporado e então dissolvido em 1ml metanol/éter etílico 1:1, sobre esta solução a 0 °C foi adicionado excesso de diazometano evidenciado pela coloração amarela da solução. Após 10 minutos o excesso de diazometano foi destruído com poucas gotas de ácido acético e o solvente evaporado sob vácuo, resultando em um óleo de coloração laranja que foi purificado em coluna cromatográfica “flash” (sílica gel, hexano/acetato de etila 35%), fornecendo 0,03g (41% de rendimento) de um óleo amarelo pálido caracterizado como a *cis*-metil-N-(Cbz)-2-acetil-3-carboximetil-pirrolidina **34** (Rf= 0,24 Hexano/acetato de etila 30%).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS:

* Os sinais estão duplicados nos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C devido a presença de rotâmeros.

RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , ppm):

2,07 e 2,29 (3H, s, COCH_3); 2,10-2,21 (1H, m, H_4); 2,31-2,40 (1H, m, H_4); 3,26-3,33 (1H, m, H_5); 3,49-3,61 (1H, m, H_5); 3,68 e 3,69 (3H, s, CO_2CH_3); 3,71-3,78 (1H, m, H_3); 4,60 e 4,71 (1H, d, $J=8,5\text{Hz}$, H_2); 5,08-5,18 (2H, m, CH_2Ph); 7,27-7,6 (5H, m, Ar).

RMN ^{13}C (300MHz, CDCl_3 , ppm):

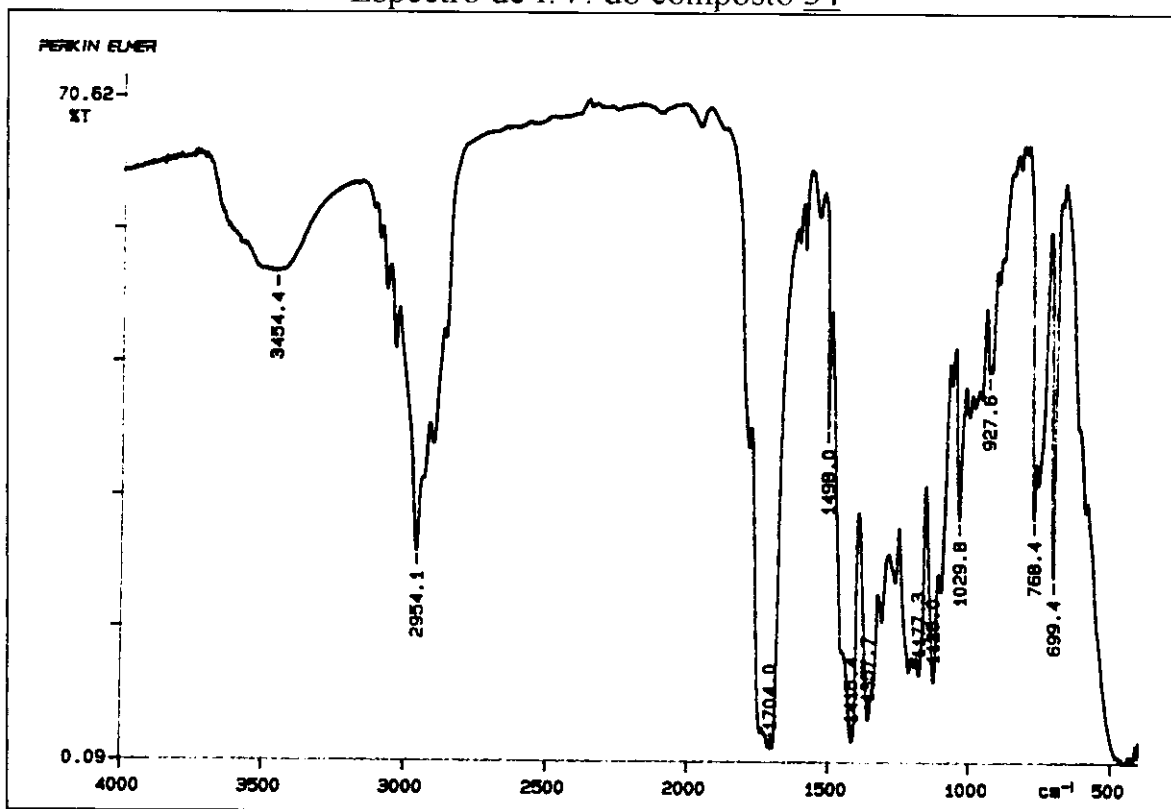
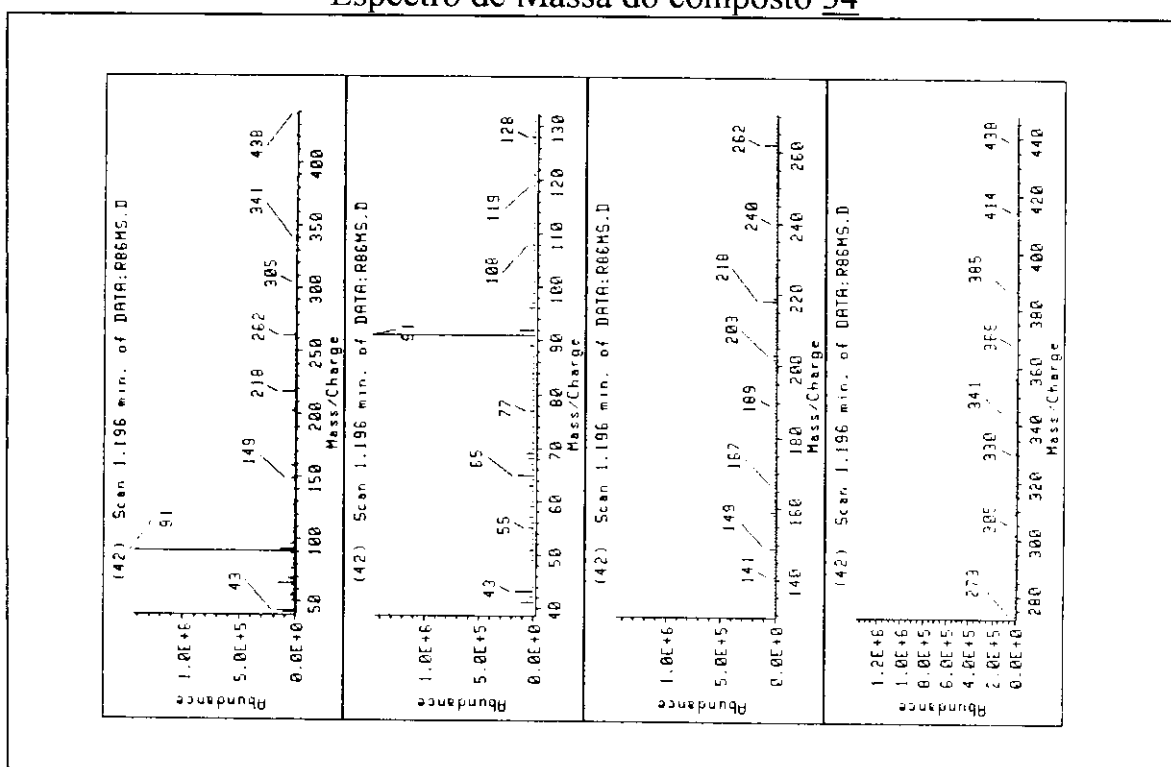
26,4 e 27,2 (CH_2); 29,0 e 29,7 (CH_3); 45,8 e 46,2 (CH_2); 46,6 e 47,7 (CH); 52,3 e 53,5 (CO_2CH_3); 64,9 e 65,0 (CH); 67,3 e 67,6 (CH_2Ph); 127,9 e 128,1 (CH aromático); 128,2 e 128,3 (CH aromático); 128,5 e 128,6 (CH aromático); 135,9 e 136,3 (C aromático); 154,0 e 154,9 (C=O); 171,0 e 171,1 (C=O); 207,7 (C=O).

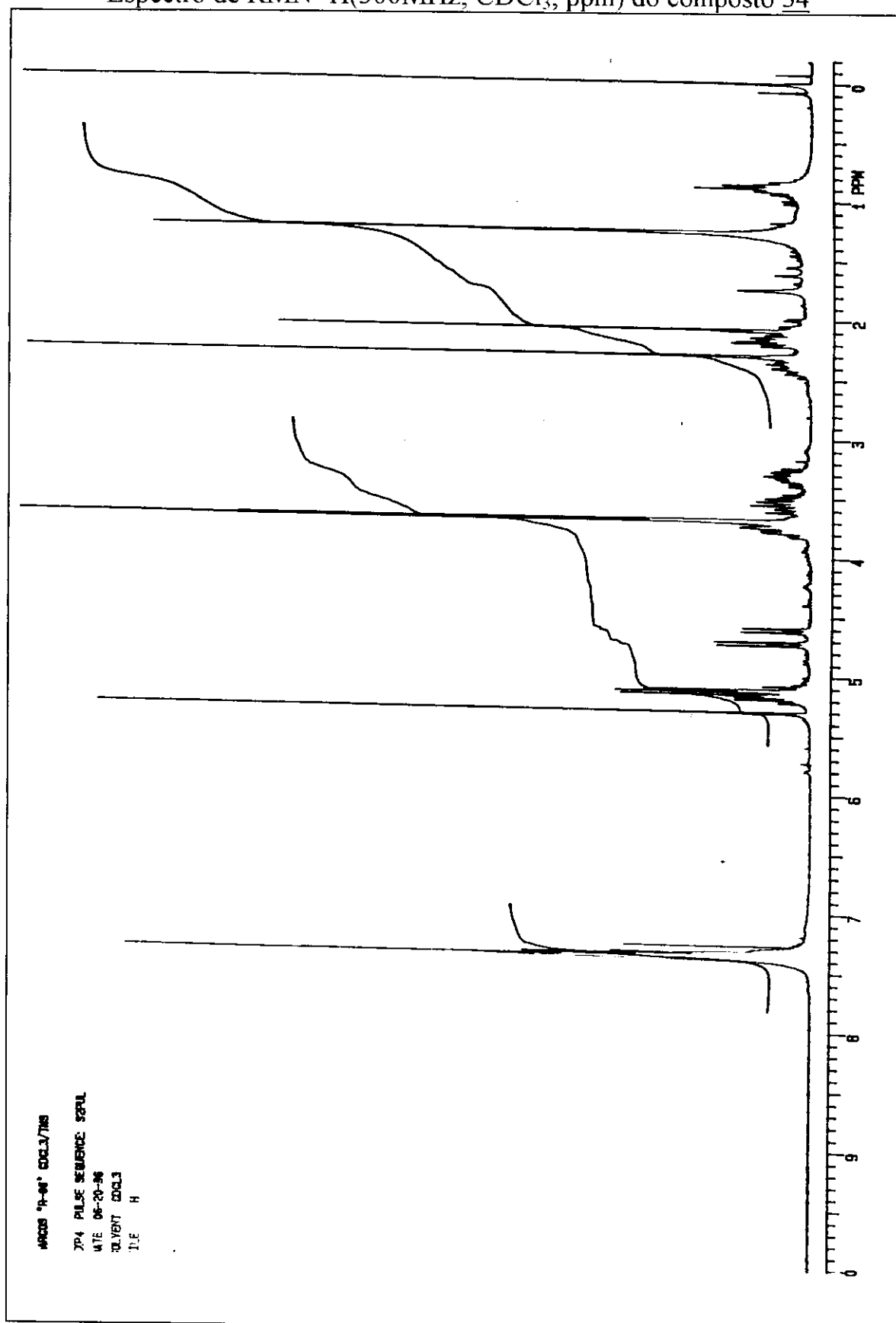
I.V. (filme, cm^{-1}):

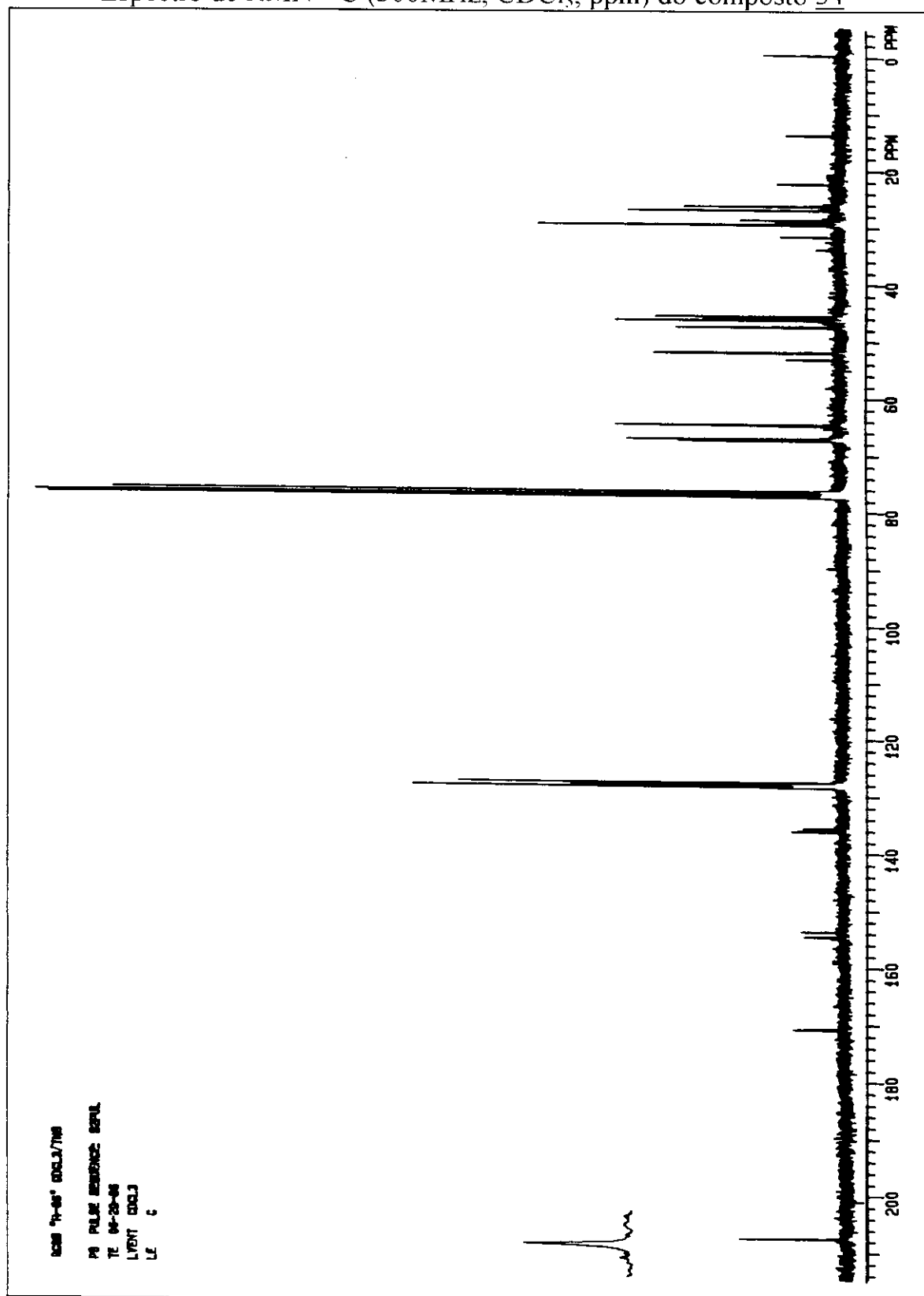
1704, 1415, 1357, 1177, 1126, 768, 699

E.M. (m/z, abundância relativa):

305(M^+), 262(10), 203(3), 181(10), 91(100), 65(10)

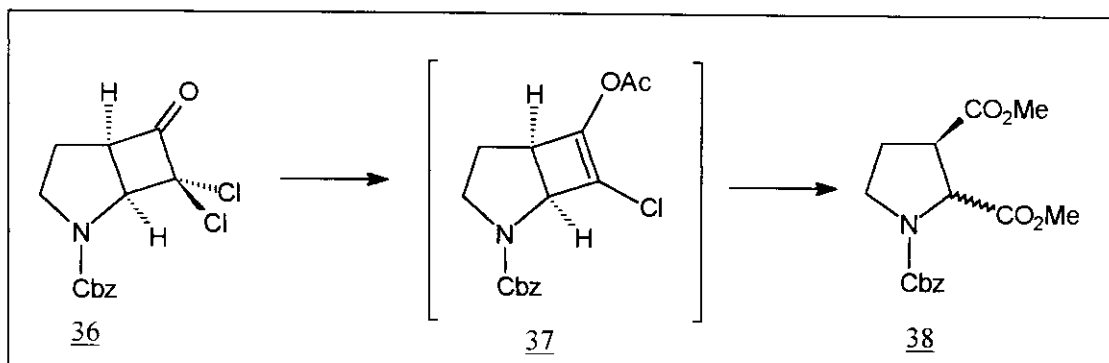
Espectro de I.V. do composto 34Espectro de Massa do composto 34

Espectro de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , ppm) do composto 34

Espectro de RMN ^{13}C (300MHz, CDCl_3 , ppm) do composto 34

3.14- CLIVAGEM OXIDATIVA COM $\text{Ru}^{\text{VIII}}/\text{NaIO}_4$

MÉTODO 1:



Sobre uma solução da α,α -diclorociclobutanona **36** (0,08g; 0,28mmoles dissolvidos em 2ml de THF), a -78°C foi adicionado num período de 1 minuto uma solução hexânica de *n*-butilitio 1,1M(0,13ml; 0,29mmoles).

Após 15 minutos foi adicionado anidrido acético (0,2ml; 1,93mmoles), o banho de gelo foi retirado e a solução deixada vir a temperatura ambiente. Transcorrido 1,5 horas, o solvente foi removido sob vácuo e o enolacetato **37** bruto dissolvido em 1,8ml de acetonitrila- tetracloreto de carbono- água (1:1:1,5) e tratado com periodato de sódio (0,3g; 1,5mmoles) e tricloreto de rutênio (0,006g;).

Após 14 horas de eficiente agitação a temperatura ambiente a mistura reacional foi tratada com 2ml de hidróxido de sódio aquoso 10% e mantida sob agitação por mais 6 horas. A seguir a mistura reacional foi extraída com éter etílico (2x 10ml), sendo esta fase orgânica descartada. A fase aquosa foi acidificada para pH~2-3 com HCl 10% e extraída com acetato de etila (3x10ml). Após, a fase orgânica, foi lavada com tiosulfato de sódio aquoso 2% e seca com sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado sob vácuo e o óleo resultante foi dissolvido em metanol e tratado com uma solução de diazometano até coloração amarela da mistura reacional. A evaporação do solvente forneceu um óleo laranja que foi purificado através de cromatografia “flash”(gel de sílica, hexano/acetato de etila 30%), obtendo-se 0,017g (21% de rendimento) de um óleo levemente amarelo caracterizado como o *cis* e *trans* diéster **38** (separados em cromatografia “flash” obteve-se uma proporção de *cis:trans* : 1:3).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS:

* Os sinais estão duplicados nos espectro de RMN ^1H devido a presença de rotâmeros.

TRANS-DIÉSTER 38

RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , ppm):

2,32-2,34 (1H, m, H_4); 2,36-2,39 (1H, m, H_4); 2,95-3,23 (1H, m, H_5); 3,25-3,27 (1H, m, H_5); 3,58, 3,74 e 3,75, 3,81 (6H, s, CO_2CH_3); 3,61-3,73 (1H, m, H_3); 4,75 e 4,81 (1H, d, $J=1,14\text{Hz}$, H_2); 5,17-5,21 (2H, m, PhCH_2); 7,23-7,39 (5H, m, Ar.).

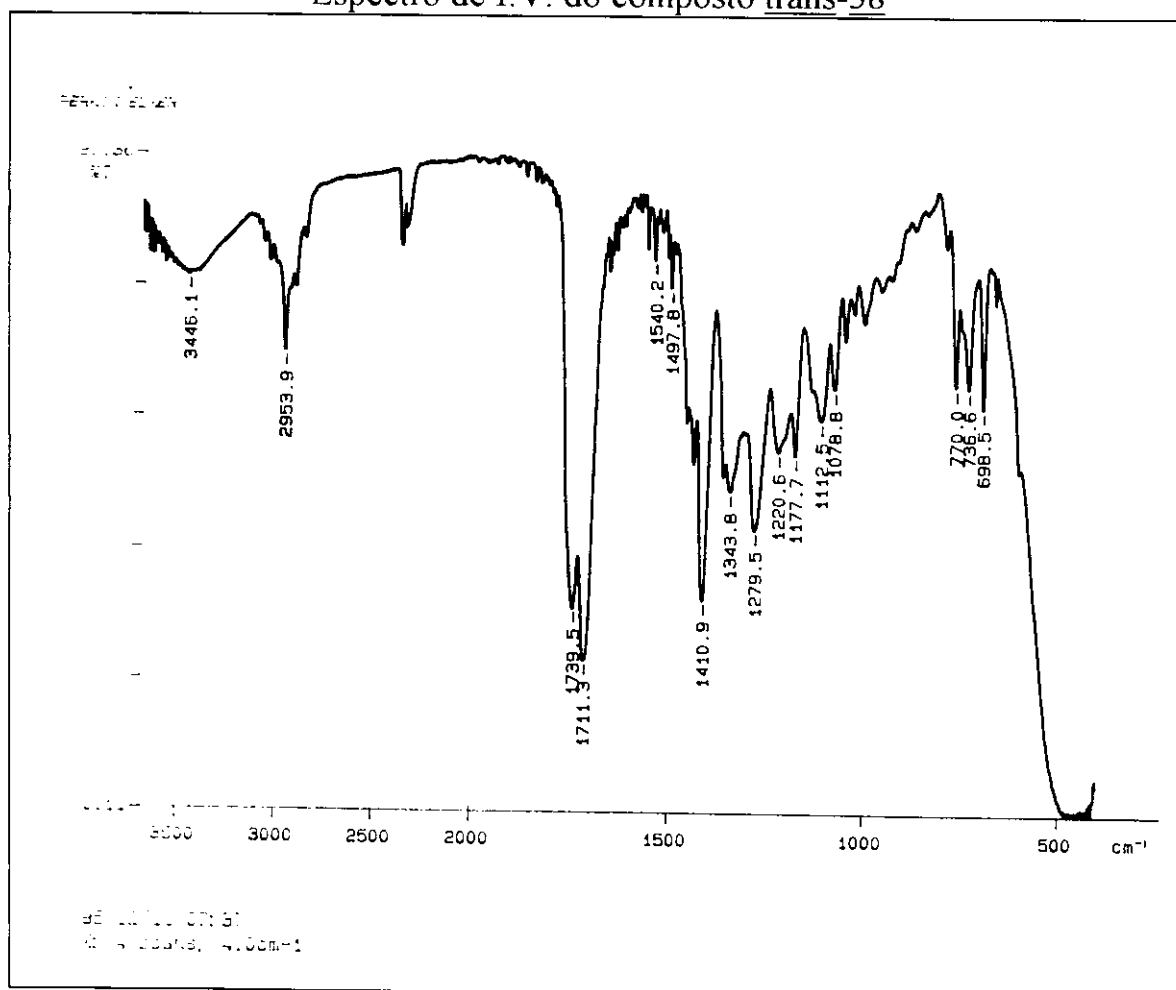
I.V. (filme, cm^{-1}):

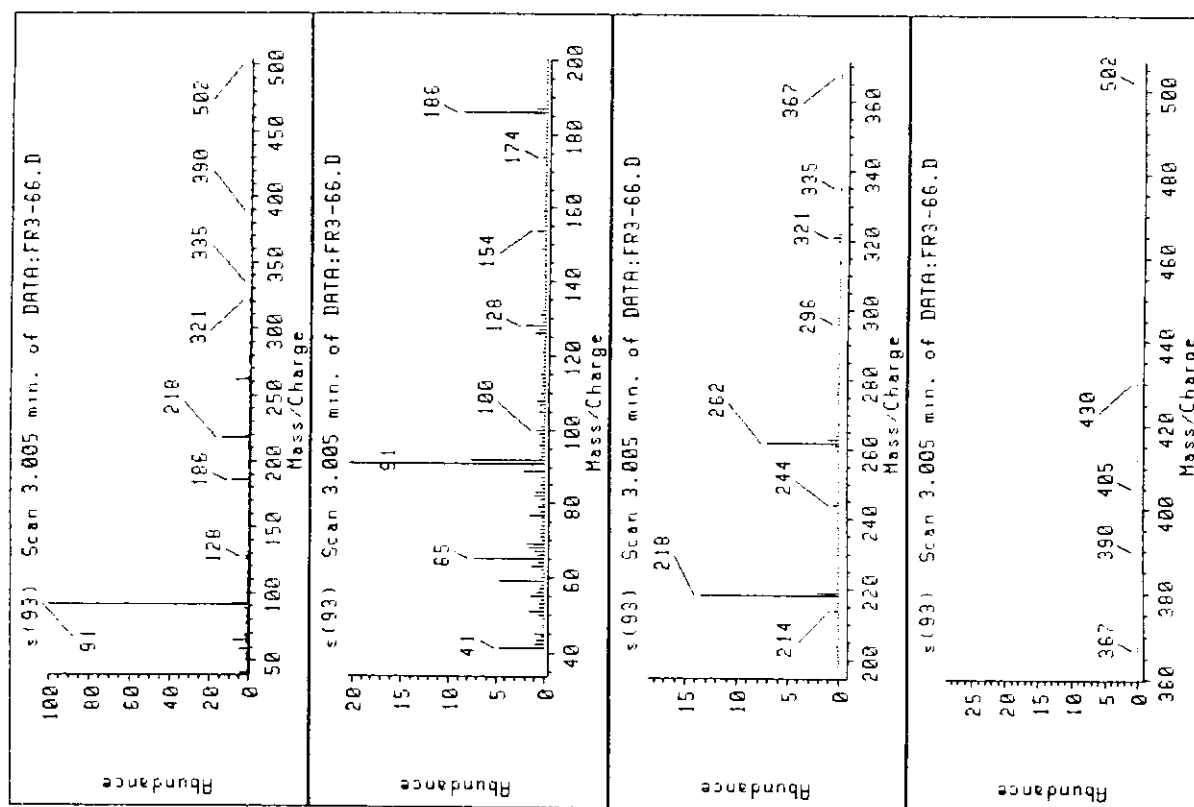
1739, 1711, 1410, 1343, 1279, 736, 698

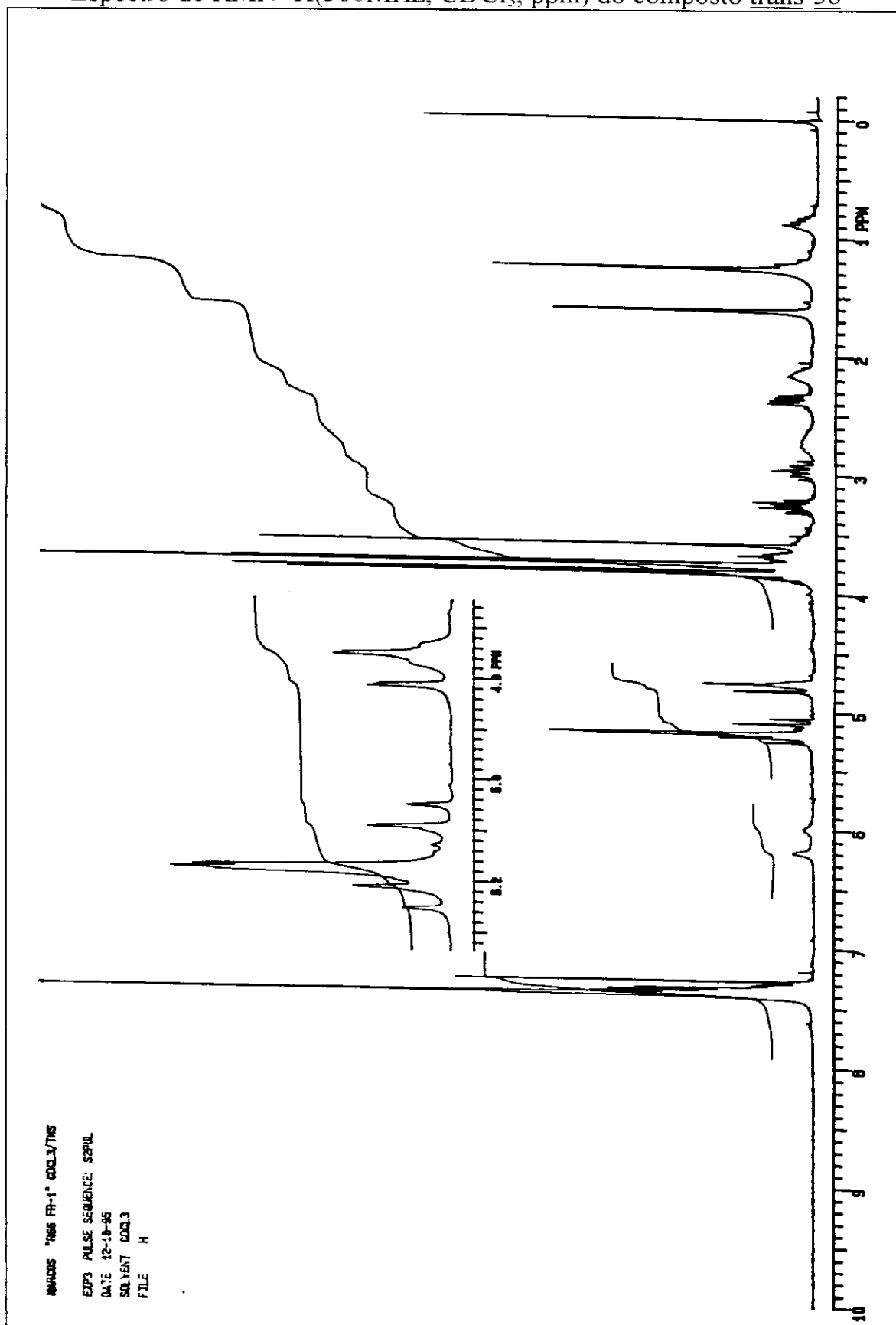
E.M. (m/z, abundância relativa)

321(M^+), 262(5), 218(13), 186(8), 128(3), 91(100), 65(5)

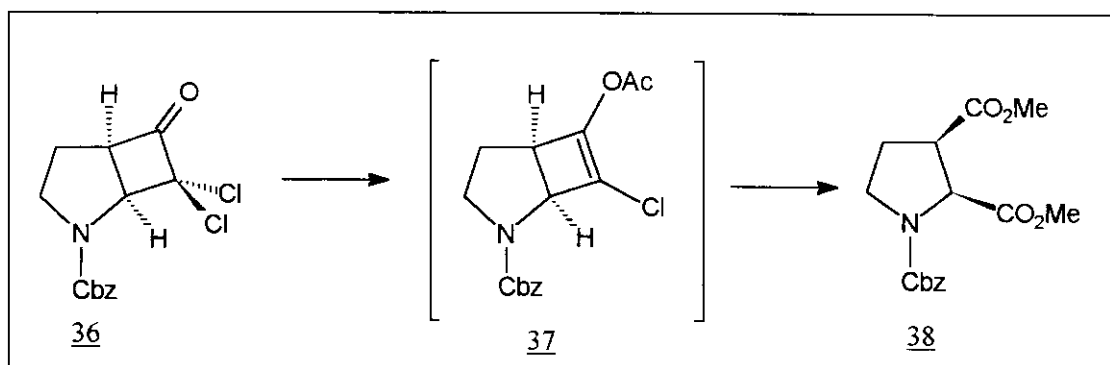
Espectro de I.V. do composto trans-38



Espectro de Massa do composto trans-38



MÉTODO 2:



A uma solução de iodeto de cobre (0,229g; 1,15mmoles, dissolvidos em 6ml de THF) a -20°C foi adicionado uma solução etérea de metilítio 0,65M(3,6ml; 2,3mmoles). A temperatura foi elevada a 0°C e em seguida reduzida a -50°C . Sobre esta solução foi adicionado num período de 2 minutos a α,α -diclorociclobutanona **36** (0,144g; 0,458mmoles dissolvidos em 4ml de THF). Após 50 minutos foi adicionado anidrido acético (0,5ml; 5mmoles) permanecendo por 3 horas em agitação a temperatura ambiente.

Transcorrido este período a mistura reacional foi transferida para um funil de separação, contendo 15ml de uma solução aquosa de $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$ (pH~8) e extraída com hexano éter etílico 1:1 (3x10ml). A fase orgânica combinada foi seca em sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado sob vácuo, resultando um óleo amarelo (enolacetato **37**)

O enolacetato **37** bruto foi dissolvido em 3,5ml de $\text{CH}_3\text{CN}-\text{CCl}_4-\text{H}_2\text{O}$ (1:1:1,5) e tratado com periodato de sódio (0,6g; 3,0mmoles) e tricloreto de rutênio (0,007g). Após 14 horas foi adicionado 1ml de HCl 10%, permanecendo por 3 horas sob agitação. A mistura reacional foi transferida para um funil de separação e extraída com acetato de etila (3x20ml). A fase orgânica combinada foi seca em sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado sob vácuo, Obtendo-se um óleo de coloração alaranjada. A adição de clorofórmio a este óleo, ocorreu a precipitação de pequena quantidade de um sólido branco, que foi separado do óleo e caracterizado como o *cis*-diácido de **38**. O sólido e o óleo resultante dissolvidos em 1ml de metanol a 0°C foram tratados com excesso de diazometano (evidenciado pela coloração amarela da solução). Após 10 minutos o diazometano em excesso foi destruído com poucas gotas de ácido acético. O óleo obtido após evaporação do solvente sob vácuo foi purificado através cromatografia “flash” (gel de sílica, hexano/acetato de etila 30%) obtendo-se 0,053g (35% de rendimento) de um óleo amarelo claro caracterizado como o *cis* diéster **38**.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS:

* Os sinais estão duplicados nos espectro de RMN ^1H e RMN ^{13}C devido a presença de rotâmeros.

* Os dados espectroscópicos do cis-diéster 38 foram apresentados anteriormente.

CIS-DIÁCIDO DE 38

RMN ^1H (300MHz, Acetona- d^6 , ppm):

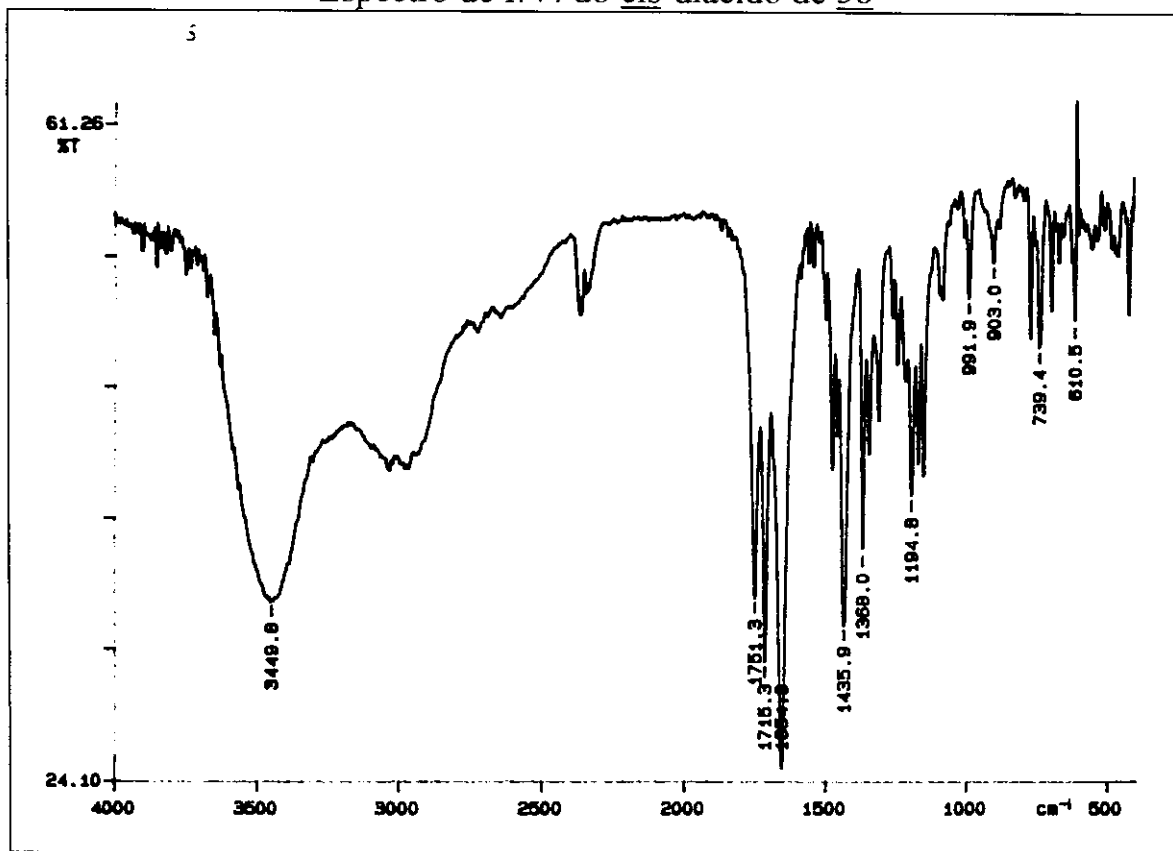
2,08-2,20 (1H, m, H_4); 2,30-2,42 (1H, m, H_4); 3,41-3,55 e 3,64-3,74 (3H, m, H_3 e H_5); 4,61 e 4,66 (1H,d, $J=8,4\text{Hz}$, H_2); 5,12(2H, s, PhCH_2); 7,23-7,45 (5H,m, Ar.).

RMN ^{13}C (300MHz, Acetona- d^6 , ppm):

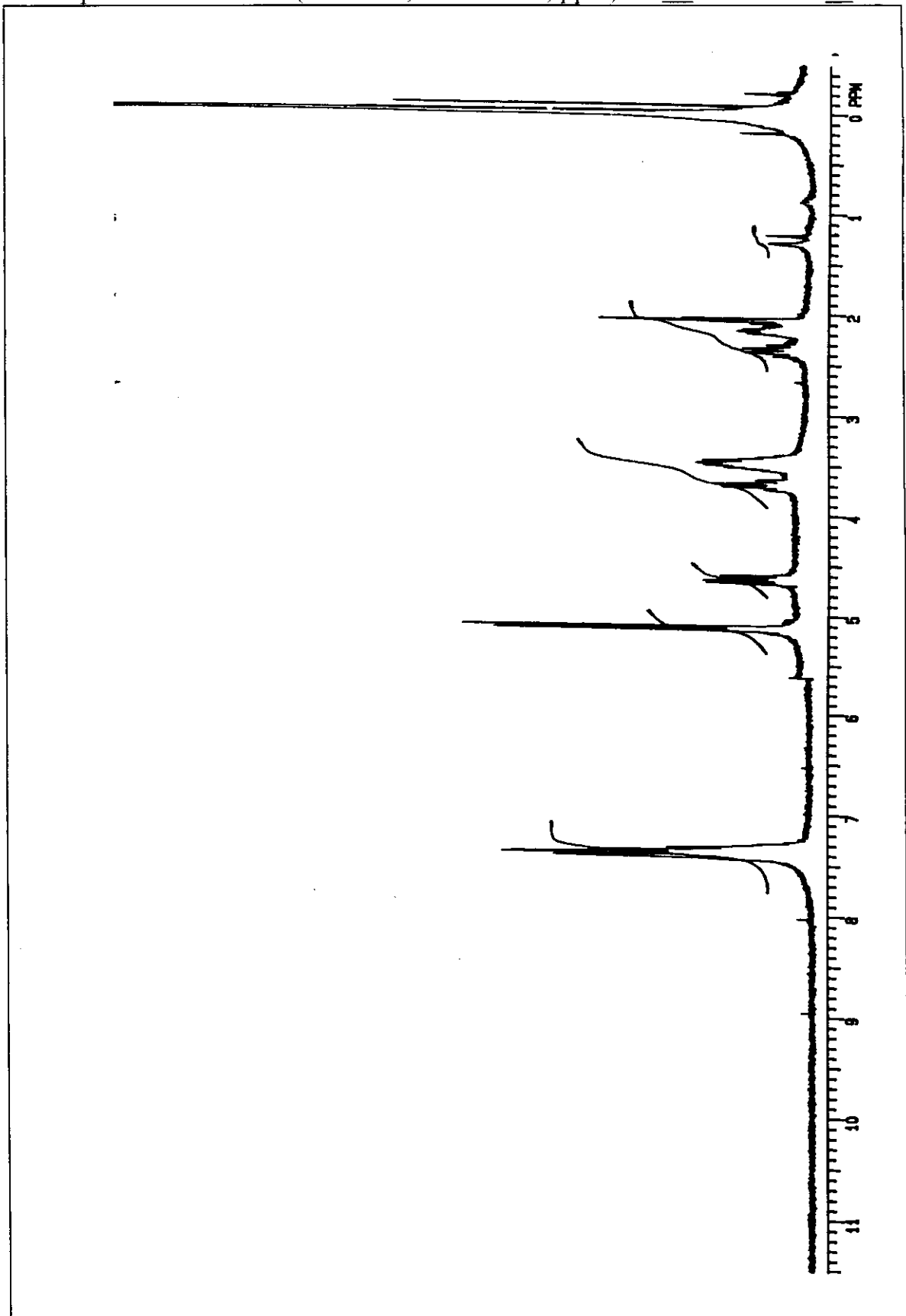
26,7 e 27,7(CH_2); 46,2 e 46,7(CH_2); 46,8 e 47,8(CH); 61,2 e 61,7(CH); 67,2 e 67,3(CH_2Ph); 128,2 e 128,5 (CH aromático); 128,6 e 128,7 (CH aromático); 129,2 e 129,3 (CH aromático); 138,0 e 138,1 (C aromático); 154,6 e 155,2 ($\text{C}=\text{O}$); 171,6 , 171,6 , 171,8 e 171,9 (2x $\text{C}=\text{O}$).

I.V. (pastilha KBr, cm^{-1}):

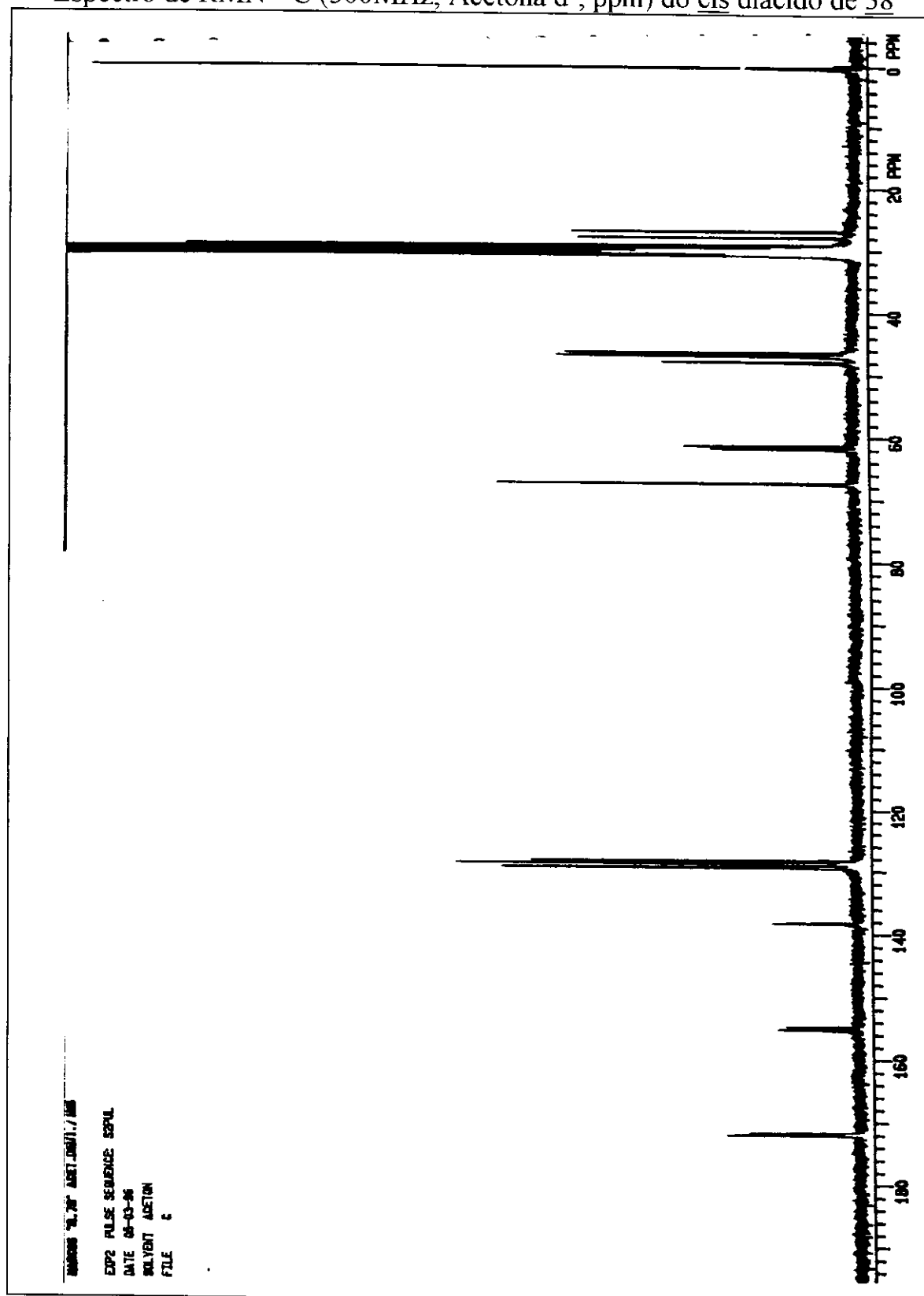
3449, 1751, 1715, 1654, 1435, 1368, 1194, 991

Espectro de I.V. do cis-diácido de 38

Espectro de RMN ^1H (300MHz, Acetona d^6 , ppm) do cis diácido de 38



Espectro de RMN ^{13}C (300MHz, Acetona d^6 , ppm) do cis diácido de 38



CAPÍTULO 4

4- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- 1- Johnson, R. L.; Koerner, J. F. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 2057.
- 2- a) Allan, R. D.; Hanrahan, R. J.; Hambley, T. W.; Johnston, G. A. R.; Mewett, R. N.; Mitrovic, A. D. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 2905.
b) Ornstein, P. L.; Schaus, J. M.; Chambers, J. W.; Huser, D.; Leonder, J. D.; Wong, D. T.; Paschal, J. W.; Jones, N. D.; Deeter, J. B. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 827.
- 3- Bridges, R. J.; Stanley, M. S.; Anderson, M. W.; Cotman, C. W.; Chamberlin, A. R. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 717.
- 4- Kozikowski, J. T.; Tückmantel, W.; Reynolds, I. J.; Wroblewski, J. T. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1561.
- 5- Benetti, S.; Barco, A.; Spalluto, G. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6279.
- 6- Impellizzeri, G.; Magiafico, S.; Oriente, G.; Piatelli, M.; Sciuto, S.; Fattorusso, E.; Magno, S.; Santacroce, S.; Sica, D. *Phytochemistry* **1975**, *14*, 1549.
- 7- Parsons, A. F. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 4149 (para uma revisão sobre cáinatos).
- 8- Young, D. W.; Moody, C. M. *Tetrahedron Letters* **1993**, *34*, 4667.
- 9- Young, D. W.; Moody, C. M. *Tetrahedron Letters* **1994**, *35*, 7277.
- 10- a) Shirahama, H.; Yanagida, M.; Hashimoto, K.; Ishida, M.; Shinozaki, H. *Tetrahedron Letters* **1989**, *30*, 3799.
b) Shirahama, H.; Yanagida, M.; Hashimoto, K. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 1931.
- 11- Langlois, N.; Rojas, A. *Tetrahedron Letters* **1993**, *34*, 2477.

-
- 12- Agami, C.; Kadouri-Pochot, C.; Leguen, V.; Vaissermann, J.
Tetrahedron Letters **1995**, 36, 1657.
- 13- Lubell, W. D.; Sharma, R. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 202.
- 14- a) Moss, W. O.; Bradbury, R. H.; Hales, N. J.; Gallagher, T.
Tetrahedron Letters **1990**, 31, 5653.
b) Moss, W. O.; Jones, A. C.; Wiserdale, R.; Mahon, M. F.; Molloy,
K. C.; Bradbury, R. H.; Hales, N. J.; Gallagher, T. *J. Chem. Soc.,
Perkin Trans I* **1992**, 2615.
- 15- Sasaki, N. A.; Pauly, R.; Fontaine, C.; Chiaroni, A.; Riche, C.; Potier,
P. *Tetrahedron Letters* **1994**, 35, 241.
- 16- Baldwin, J. E.; Adlington, R. M.; Gollins, D. W. *Tetrahedron* **1995**,
51, 5169.
- 17- Cotton, R.; Johnstone, A. N. C.; North, M. *Tetrahedron* **1995**, 51,
525.
- 18- Skinner, K. J. *Chemical & EN*, 07 de outubro de **1991**, 24.
- 19- Yoo, S.; Lee, S. H.; Kim, N. *Tetrahedron Letters* **1988**, 29, 2195.
- 20- Langlois, N.; Adriamialisoa, R. Z. *Tetrahedron Letters* **1991**, 32, 3057.
- 21- Ikeda, M.; Sato, T.; Matsubayashi, K.; Yamamoto, K.; Ishikama, H.;
Ishibashi, H. *Heterocycles* **1995**, 40, 261.
- 22- Kraus, G. A.; Neueuschwander, K. *J. Org. Chem.* **1981**, 46, 4791.
- 23- a) Faria, A. R.; Mattos, C.; Correia, C. R. D. *Tetrahedron Letters*
1993, 34, 27.
b) Faria, A. R.; Tese de Mestrado-NPPN/UFRJ agosto 1992.
- 24- Greene, A. E.; Deprés, J. P.; Coelho, F. *J. Org. Chem.* **1985**, 50,
1972.
- 25- Greene, A. E.; Deprés, J. P.; Navarro, B. *Tetrahedron* **1989**, 45, 2989.

-
- 26- Carlsen, P. H. J.; Katsuki, T.; Martin, V. S.; Sharpless, K. B. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 396.
- 27- Smith, M. B. *Organic Synthesis*, **1994**, Mc Graw-Hill, 719.
- 28- a) Russel, G. A.; Lamson, D. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 3967.
b) Kuiuila, H. G.; Alnajjar, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 416.
- 29- Greene, A. E.; Deprés, J. P. *Tetrahedron Letters* **1989**, *30*, 7065.
- 30- March, J. *Advanced Organic Chemistry* **1992**, Wiley Interscience, 1177.
- 31- Röder, E.; Wiedenfeld, H.; Bouravel, T. *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 1117.
- 32- Monn, J. A.; Valli, J. M. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2773.
- 33- Bodanszky, M.; Bodansky, A. *The Practice of Peptide Synthesis*, 2 ed., **1994**, Springer, 210.
- 34- Chamberlin, A. R.; Humphrey, M. J.; Bridges, R. J.; Hart, J. A. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2467.
- 35- Greene, A. E.; Deprés, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 4003.
- 36- Holder, R. W. *J. Chemical Education* **1976**, *53*, 81.
- 37- Furniss, B. S.; Hannaford, A. J.; Smith, P. W. G.; Tatchel, A. R. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, 5 ed., **1989**, Logman, 430.
- 38- Still, W. C.; Kahn, M. A. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923.