UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS INSTITUTO DE QUÍMICA DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO

TESE DE DOUTORADO

REAÇÃO DE ARILAÇÃO DE HECK REGIO E ESTEREOSSELETIVA DA 3-DESIDROPROLINA COM SAIS DE ARILDIAZÔNIO. APLICAÇÃO NA SÍNTESE TOTAL DE ANÁLOGOS NEUROEXCITATÓRIOS DO ÁCIDO ACROMÉLICO.

ALUNA: Kezia Peixoto da Silva

ORIENTADOR: Prof. Dr. Carlos Roque Duarte Correia

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP

Silva, Kezia Peixoto da.
Reação de arilação de Heck regio e estereosseletiva da 3-desidroprolina com sais de arildiazônio. Aplicação na síntese total de análogos neuroexcitatórios do ácido acromélico / Kezia Peixoto da Silva. -- Campinas, SP: [s.n], 2005.
Orientador: Carlos Roque Duarte Correia.
Tese – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.
1. Reação de Heck. 2. Ácido acromélico. 3. Sais de diazônio. 4. Cainatos. I. Correia, Carlos Roque Duarte. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Título em inglês: Regio and stereoselective Heck arylation of 3-dehydroprolines with aryldiazonium salts. Total synthesis of the neuroexcitatory acromelic acid analogues

Palavras-chaves em inglês: Heck reaction, Acromelic acid, Diazonium salts, Kainoids

Área de concentração: Química Orgânica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora: Carlos Roque Duarte Correia, Sílvio de Desterro Cunha, Antonio Luiz Braga, José Augusto Rosário Rodrigues, Ronaldo Aloise Pilli, Lúcia Helena Brito Baptistella, Paulo Mitsuo Imamura.

Data de defesa: 02/02/2006

Dedico este trabalho a minha família:

A vocês queridos papai (Peixoto) e mamãe (Elizabete), pelo amor incondicional, a amizade, o carinho, a proteção, o incentivo, o apoio e o sustento. Pelo exemplo de fé e amor a Deus e pela excelente educação que me deram. Durante todos esses quatro anos distantes foram vocês que me proporcionaram tanto equilíbrio e vontade para continuar.

Aos meus amados irmãos Antonio, Ana, André, Assíria, Ainoã, Azenate e Andreia. Vocês são meus irmãos e amigos sempre presentes; saber do amor de vocês traz regozijo e renovo a minha alma.

Aos meus sobrinhos Dhyellen, Julius, Victor, Andrezinho, Priscila, Rebequinha, Rebeca e Ana Beatriz. Vocês são a alegria, a diversão e a esperança para as nossas vidas.

Aos meus cunhados Mardem, Diná, Carina, Joel, Davi, e Edijadson. Obrigada por serem tudo aquilo que meus irmãos são para mim.

AGRADECIMENTOS

Ao Deus Trino, agradeço Vosso amor, carinho, proteção e por Vossa presença em todos os momentos de minha vida.

Mais uma vez agradeço a toda minha família, principalmente aos meus pais pelo incentivo, o apoio e pelo sustento.

Ao prof. Carlos Roque pela orientação, o incentivo e apoio na execução desse trabalho. Agradeço pela oportunidade de trabalhar em seu grupo de pesquisa e pela confiança em mim depositada.

Especialmente ao Steve por todo apoio, amor, carinho, companheirismo, cuidado, paciência e, principalmente, pelos constantes incentivos e dedicação durante esse período de final de tese.

Aos professores Fernando Coelho, Lúcia Baptistela e José Augusto pelas sugestões dadas pela ocasião do exame de qualificação.

Ao professor e amigo Rodolfo por seu incentivo, amizade, as muitas ajudas e pelos ensinamentos de síntese orgânica.

Ao amigo Marcos (Mola), muito obrigada pelos ensinamentos e pelas constantes ajudas no início do projeto.

A amiga Daniela pelas boas vindas, pela amizade, pelos momentos descontraídos, pelo apoio e pelos ensinamentos da "Heck".

A todos os amigos do laboratório: Ângelo, Antônio (Tonhão), Antonio (Ucla), Ariel, Édson, Elias I, Elias II, Fabrício, Juliana, Humberto, Ítalo, Júlio, Karen, Laura, Marcelo, Marla, Paulo, Paula, Ricardo. Obrigada pela amizade, colaboração e pela convivência agradável.

Aos amigos dos laboratórios vizinhos, em especial ao Gustavo, Leila, Andréa, Sandra, Bruno e Carlos, pelos bons momentos, as contribuições, as trocas de reagentes e pelo ótimo convívio dentro e fora do laboratório. Aos técnicos do laboratório, Rinaldo e D. Gilda; aos técnicos do RMN, Sôninha e Sonia; ao técnico Cidão (MS), a Cláudia ($[\alpha]_D$), pela colaboração, atenção e disponibilidade.

Aos grandes amigos Márcio e Luciana pelos ótimos momentos fora do laboratório, pelas ajudas, os socorros, a atenção e o carinho. Obrigada por sempre me incentivarem ao longo do doutorado e na execução desse trabalho.

A amiga de república e irmã Aída, obrigada pela amizade, pela confiança, pelo incentivo, pela paciência e companheirismo durante todos esses 4 anos de Campinas.

A amiga Adriana que me concedeu hospedagem logo ao chegar em Campinas, e pela amizade que ficou entre nós.

Igualmente agradeço ao pessoal da casa da ABU, principalmente ao Murilo, pela hospedagem e por nos ajudar a montar nossa república Beraca.

A sempre presente amiga Renata, obrigada pela velha amizade desde do período da faculdade. Amigo agente guarda...

A mais nova amiga Luciane, obrigada pelo apoio, o carinho e a amizade.

A todos os amigos de Campinas, em especial as famílias Rodrigues, Praude, Gouveia e ao Marco (namorado da Aída).

À Capes pela concessão da bolsa de doutorado.

Súmula Curricular

Kezia Peixoto da Silva

1 Formação Acadêmica

08/01 a 12/05 – Doutorado em Ciências – UNICAMP –Campinas/SP.
08/99 a 06/01 – Mestrado em Ciências Farmacêuticas – UFPE – Recife/PE.
03/94 a 12/99 - Graduada em Ciências Farmacêuticas – UFPE – Recife/PE.
03/91 a 12/94 - Técnico em Química – ETFPE – Recife/PE.

2 Experiência Profissional

01/98 a 06/98 - Técnico em Química - Laboratório de Controle de Medicamentos - Instituto Tecnológico do Estado de Pernambuco – Ingresso por concurso público.

3 Atividades Didáticas

08/04 a 12/04 - Estágio de docência: PED II; Disciplina: QO-622 Química Orgânica Experimental, Instituto de Química, UNICAMP.

03/03 a 07/03 - Estágio de docência: PED I; Disciplina: QO-620 Química Orgânica Experimental, Instituto de Química, UNICAMP.

03/00 a 07/00 - Estágio de docência do programa da CAPES; Disciplina: Química orgânica 07, Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE.

07/98 – 12/98 – Programa de aperfeiçoamento da FACEP - Departamento de Ciências Farmacêuticas - UFPE.

01/97 a 12/97, Estágio Extracurricular Farmacêutico, Laboratório de Controle de Medicamentos – ITEP, Carga horária: 759 horas.

03/96 a 11/96, Iniciação Científica, Laboratório de Processos Fermentativos, Departamento de Antibióticos - UFPE, Carga horária: 420 horas.

03/95 a 03/96, Estágio Curricular Técnico em Química, Laboratório de Engenharia Ambiental e Biossensores- Departamento de Engenharia Química -**UFPE**; *Carga horária*: 720 horas. 08/97 a 12/97, monitor da disciplina: Química Farmacêutica II, Departamento de Farmácia - **UFPE**, Carga horária: 240 horas.

08/1996 – 12/1996, monitor da disciplina: Química Orgânica 07, Departamento de Engenharia Química - UFPE, Carga horária: 240 horas.

03/1996 – 07/1996, monitor da disciplina: Química Analítica Quantitativa, Departamento de Engenharia Química - UFPE, Carga horária: 240 horas.

4 Comunicações em Congressos

Silva, K.P.; Correia, C.R.D. 11th Brazilian Meeting on Organic Synthesis – Canela/RG – 29/08 a 02/09/05.

Silva, K.P.; Correia, C.R.D. 2th Brazilian Medicinal Chemistry - Rio de Janeiro/RJ – 30 a 02/11/04.

Silva, K.P.; Correia, C.R.D. 2th Brazilian Medicinal Chemistry – Rio de Janeiro/RJ – 30 a 02/11/04.

Silva, K.P.; Correia, C.R.D. 27^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ – Salvador/BA – 30 a 02/06/04.

Silva, K.P.; Correia, C.R.D. 10th Brazilian Meeting on Organic Synthesis – São Pedro/SP – 24 a 28/08/03.

Silva, K.P.; Correia, C.R.D. 25^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ – Poços de Caldas/MG – 20 a 23/05/02.

Silva, K.P.; Silva, D.O.; Morais, J.P.M.B.; Faria, A.R.; Doboszewski, B.; Brondani, D.J.; Lima Leite, A.C. *XL Congresso Brasileiro de Química* – Recife/PE - 23 a 26/10/00.

Silva, K.P.; Pedrosa, T.R.F.; Faria, A.R.; Doboszewski, B.; Brondani, D.J.; Lima Leite, A.C. *XL Congresso Brasileiro de Química* – Recife/PE - 23 a 26/10/00.

5 Publicações

1. Leite A. C. L., da Silva K. P., Souza, I. A.; Araújo, J. M.; Brondani D. J. Eur. J. Med. Chem. 2004, 39, 1059.

2. Leite A. C. L., da Silva K. P., Brondani D. J.; Heterocycl Commun, 2001, 7, 555.

3. da Silva K. P., Brondani D. J., Leite A. C. L. Heterocycl Commun 2001, 7, 445.

4. Leite A. C. L., da Silva K. P., Vieira, R. F. F., de Faria, A. R., Brondani, D. J., *Revista Brasileira de Farmácia*, 2001, 82.

Leite A. C. L., da Silva K. P., Vieira, R. F. F., Costa, R. M. R., Brondani D. J., de Faria,
 A. R., Santana, D. P., Neto, P. R., Alves, A. J. *Revista Brasileira de Farmácia;* 2000, *81*,
 29.

RESUMO

O estudo das reações de arilação de Heck utilizando como olefina, uma desidroprolina quiral, tendo como grupos de arilação vários sais de arenodiazônio, leva a formação de uma série de 4-aril-2-desidroprolinas de grande interesse biológico. A aplicação de sais de diazônio nesta reação oferece diversas vantagens sobre a Heck tradicional, tais como condições suaves de reação e livres de fosfinas, além do curto tempo de reação. Nosso interesse nessa reação deriva na aplicação sintética de análogos do ácido acromélico, que vem a ser um composto de origem natural fortemente neuroexcitatório.

A reação de arilação de Heck da 3-desidroprolina quiral foi obtida em ótimos rendimentos usando vários sais de tetrafluoroboratos arildiazônios, tendo duas condições de reação com acetonitrila-água ou em metanol; os dois métodos usam condições suaves livres de fosfinas.

Realizamos um estudo comparativo com as reações de Heck tradicionais que utilizam como agentes arilantes haletos ou triflatos de arila. Nas condições tradicionais testadas (Jeffery, Crisp e Fu), apenas a reação nas condições de Jeffery levou à formação do produto de Heck, porém em muito baixo rendimento.

O composto *o*-anisilado, análogo do acido acromélico que apresentou maior atividade neuroexcitatória, pode ser obtido a partir do composto vindo da reação de arilação de Heck por uma seqüência de reações que envolvem uma reação conjugada de Michael, selenilação e posterior eliminação oxidativa. Em seguida as reações de hidrogenação, descarboxilação, epimerização do centro em C-2 levaram ao produto desejado protegido dos ácidos acromélicos após 13 etapas e com um rendimento global de 8% a partir

da 4-*trans*-hidroxi-prolina. Comparação dos dados espectrais da literatura e do valor de $[\alpha]_D$ dos análogos do ácido acromélico obtidos comprovaram a formação dos adutos da Heck, as 4-aril-2-desidroprolinas, de forma altamente régio e estereosseletiva.

ABSTRACT

The Heck arylation of chiral 3-dehydroprolines using various aryldiazonium salt resulted in the formation of a series of 4-aryldehydroprolines of potential biological interest. The application of aryldiazonium salt in this arylation reaction offers several advantages over traditional Heck reactions such as mild reactions conditions of phosphine-free conditions and shorter reaction times. The 4-aryl-dehydroprolines were envisioned as potential precursors for the synthesis of a number of acromelic acid analogues, a potent neuroexcitatory neurotransmitter.

The Heck arylation reaction of chiral 3-dehydroprolines was obtained in high yields under two basic protocols using acetonitrile-water or methanol as solvent; both methods use mild and phosphine-free conditions.

A comparative study was designed involving the Heck arylation of 3dehydroprolines using traditional electrophiles, such as aryltriflates and arylhalides. Among the traditional conditions tested (Jeffery, Crisp and Fu) only the conditions of Jeffery resulted in the formation of the Heck adduct, in rather low yields.

The o-methoxyphenyl acromelic acid analogue, which displays high neuroexcitatory activity, was obtained from a Heck adduct by a sequence of reations involving Michael addition, selenylation and oxidative deselenylation. Next, catalytic hydrogenation, decarboxylation, and epimerization resulted in the desired protected analogue of the acromelic acid after 13 steps and with an overall yield of 8% from 4-trans-hydroxyproline.

Comparison of the spectral data obtained for the compound synthesized herein and those published in the literature confirmed the structure of the acromelic acid analogue, including its absolute stereochemistry.

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

- AcOH ácido acético
- EtOAc acetato de etila
- AAE aminoácidos excitatórios
- Ac acetato
- AN acetonitrila
- ATFA anidrido trifluoroacético
- Boc t-butoxicarbonila
- CBz-carbobenziloxila
- CCD cromatografia de camada delgada
- CD dicroismo ciRcular
- CG Cromatografia Gasosa
- d dubleto
- dd duplo dubleto
- DCM diclorometano
- DIPEA diisopropiletilamina
- DMAP 4-(N,N-dimetilamino) piridina
- DMA dimetilacetamida
- DMF dimetilformamida
- DIBAL hidreto de diisobutilalumínio
- E.M. Espectro de Massa
- eq. equivalente
- Et etila
- eV elétron-volt
- h hora
- Hz Hertz
- HRMS espectrometria de massas de alta resolução
- HMDS hexametildisilazana
- *i*-Pr isopropila

IV - infravermelho J- constante de acoplamento Lit. - literatura m – multipleto MHz - Megahertz MsCl - cloreto de mesila Me – metila MeO – metoxila min - minuto NMP – N-metilpirrolidinona Ph – fenila ppm - partes por milhão R_f- fator de retenção RMN – Ressonância Magnética Nuclear s – singleto SNC – Sistema Nervoso Central t - tripleto ta – temperatura ambiente TEA - trietilamina TMS - tetrametilsilano TFA – ácido trifluoroacético THF - tetraidrofurano Tol - tolueno UV - ultravioleta δ - deslocamento químico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Neurotransmissão Mediada por Aminoácidos	3
1.2 Os Aminoácidos Cainóides	5
1.3 Isolamento dos Aminoácidos Cainóides	7
1.4 Química dos Cainóides	8
1.5 A Relação Estrutura Química e Atividade Biológica dos Cainóides	10
1.6 Aspectos Sintéticos dos Ácidos Acromélicos e Alguns de Seus Análogos	
Arilados	12
1.7 A Reação de Arilação de Heck	22
1.8 Reação de Arilação de Heck em Olefinas Cíclicas	27
2 OBJETIVOS	33
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
3.1 Obtenção do Ester metílico da (S)-N-metoxicarbonil-3,4-desidroprolina	
<u>50</u>	39
3.2 Estudo Metodológico da Reação de Heck com Sais de Arenodiazônio	43
3.2.1 Mecanismo proposto	61
3.3 Estudo Preliminar da Metodologia da Heck Tradicional com o Ester	
metílico da (S)-N-metoxicarbonil-3,4-desidroprolina <u>50</u>	66
3.4 Síntese dos Análogos Neuroexcitatórios do Ácido Acromélico	72
4 CONCLUSÃO	103
5 PARTE EXPERIMENTAL	107
5.1 Considerações gerais	109
5.2 Preparação do Ester metílico da (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)- <i>N</i> -metoxicarbonil-4-hidroxiprolina	
<u>53</u>	114
5.3 Preparação do Ester metílico da (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)- <i>N</i> -metoxicarbonil-4-	
mesiloxiprolina <u>54</u>	115
5.4 Preparação do Ester metílico da (2 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)- <i>N</i> -metoxicarbonil-4-fenilselenoprolina	

<u>55</u>	116
5.5 Preparação do Ester metílico da (S)-N-metoxicarbonil-3,4-desidroprolina	
<u>50</u>	117
5.6 Preparação da (<i>S</i>)-3,4-desidroprolina <u>56</u>	118
5.7 Procedimento geral para síntese dos sais de diazônio	119
5.8 Procedimento para preparação do Ester metílico da (4S)-N-metoxicarbonil-	
4-aril-2,3-desidroprolina	121
5.8.1 Metodologia A	121
5.8.2 Metodologia B	122
5.8.3 Metodologia C	123
5.8.4 Caracterização do Ester metílico da (4S)-N-metoxicarbonil-4-(4-	
metoxifenil)-2,3-desidroprolina <u>60</u>	124
5.8.5 Caracterização do Ester metílico da (4S)-N-metoxicarbonil-4-(2-	
metoxifenil)-2,3-desidroprolina <u>52</u>	125
5.8.6 Caracterização do Ester metílico da (4S)-N-metoxicarbonil-4-(4-	
clorofenil)-2,3-desidroprolina <u>80</u>	126
5.9 Reação de Heck empregando as condições de Jeffery. Obtenção do Ester	
metílico da (4 <i>S</i>)- <i>N</i> -metoxicarbonil-4-fenil-2,3-desidroprolina <u>81</u>	127
5.10 Tentativa de reação de Heck empregando as condições de Fu	128
5.11 Tentativa de reação de Heck empregando as condições de Crisp	128
5.12 Preparação do Ester metílico da (4S,3R,2R)-N-metoxicarbonil-4-(2-	
metoxifenil)-3-dietiloxicarbonilprolina <u>85</u>	129
5.13 Preparação da (4 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-4-(2-metoxifenil)-3-ácido etanóico prolina. <u>89</u>	130
5.14 Preparação do Ester metílico da (4S,2R,3R)-N-metoxicarbonil-4-(2-	
metoxifenil)-3-dietiloxicarbonil fenilselanilprolina <u>90</u>	131
5.15 Preparação do Ester metílico da (4 <i>S</i> ,2 <i>R</i>)- <i>N</i> -metoxicarbonil-3-	
dietiloxicarbonil-metileno-4-(2-metoxifenil) prolina <u>91</u>	132
5.16 Preparação do Ester metílico da (4S,3S,2R)-N-metoxicarbonil-4-(2-	
metoxifenil)-3-dietiloxicarbonilprolina <u>92</u>	134

5.17 Preparação da (4 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,2 <i>R</i>)-4-(2-metoxifenil)-3-ácido etanóico prolina. <u>93</u>	135
5.18 Preparação do Ester metílico da (3S,4S,2R)-N-metoxicarbonil-4-(2-	
metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina <u>96</u>	136
5.19 Preparação do Ester metílico da (3S,4S,2S)-N-metoxicarbonil-4-(2-	
metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina <u>97</u>	138
5.20 Obtenção do Ester metílico da (3S,4S,2R)-N-benziloxicarbonil-4-(2-	
metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina <u>98</u>	139
5.21 Obtenção do Ester metílico da (3S,4S,2S)-N-benziloxicarbonil-4-(2-	
metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina <u>99</u>	141
6 SEÇÃO DE ESPECTROS	143
7 APÊNDICE	239

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Neurotransmissão Mediada por Aminoácidos.

Os aminoácidos, de modo geral, desenvolvem um papel fundamental no sistema nervoso, tanto central como periférico, atuando como neurotransmissores do impulso nervoso de modo excitatório ou inibitório¹. Do ponto de vista quantitativo, os aminoácidos são provavelmente os neurotransmissores majoritários no sistema nervoso central $(SNC)^2$.

Os aminoácidos excitatórios (AAE), particularmente o glutamato, o aspartato e o homocisteinato são os principais transmissores que mediam respostas sinápticas excitatórias rápidas e produzem despolarização neuronal no SNC de mamíferos. Os aminoácidos inibitórios δ-aminobutírico (GABA), glicina, taurina e β-alanina promovem hiperpolarização neuronal no SNC^2 .

O ácido glutâmico, neurotransmissor excitatório majoritário, é conhecido por agir em duas classes de receptores; os chamados receptores ionotrópicos do glutamato (iGluRs), acoplados a canais de íons que controlam o fluxo de íons sódio, potássio e cálcio na célula nervosa; e os chamados receptores metabotrópicos do glutamato (mGluRs), que pertencem à família de receptores acoplados à proteína G e atuam através de segundos mensageiros intracelulares³.

 ¹ Willians, R. M. "Synthesis of Optically Active Amino Acids" Pergamon Press. Oxford **1989**.
 ² Cooper, J. R.; Bloom, F. E.; Roth, R. H. "The Biochemical Basis of Neuropharmacology" Oxford University Press, New York 2003.

³ Bleakman, D., Lodge, D. Neuropharmacology **1998**, 37, 1187.

As classes dos receptores dos AAE têm se expandido em cinco diferentes tipos pelo menos, sendo os três primeiros os mais importantes⁴: NMDA, Cainato (KA ou KAIN), AMPA, 1,2-amino-4-fosfonobutirato (AP4), e 1-aminociclopentano-1,3-ácido dicarboxílico (ACPD), onde cada um dispõe de características fisiológicas distintas. A Figura 1 mostra uma representação esquemática da sinapse glutamatérgica.



Figura 1: Diagrama representativo da sinapse glutamatérgica.

De acordo com o diagrama acima, vemos que os receptores ionotrópicos funcionam promovendo a passagem de íons entre o meio extracelular e intracelular a partir da ativação por um ligante (ex: o aminoácido glutamato ou agonistas). Os receptores metabotrópicos atuam acoplados a proteínas efetoras através das proteínas-G, responsáveis pela produção de sistemas mensageiros secundários como ionositol-fosfato (I₃P), cálcio e c-AMP. Esses mensageiros secundários catalisam uma rede de

⁴ a) Monaghan, D. T.; Bridges, R. J.; Cotman, C. W. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1989**, *29*, 365. b) Para revisão sobre aminoácidos excitatórios, ver: a) Moloney, M. G. *Nat. Prod. Rep.* **2002**, *19*, 597. b) Moloney, M. G. *Nat. Prod. Rep.* **1998**, *15*, 205.

transformações que conduzem a modulação de canais de íons (canais de Ca^+ e K⁺ e outros canais dependentes de ligantes ou de voltagem)⁴.

A interação do aminoácido ao receptor conduz a uma resposta fisiológica causada por alguma modificação conformacional do complexo receptor-ligante. As transmissões neuroexcitatórias estão relacionadas a uma grande variedade de processos fisiológicos importantes, tais como: aprendizado e memória, regulação do sistema neuroendócrino e no desenvolvimento de sinapses normais⁵. Da mesma forma, esses receptores glutamatérgicos estão também envolvidos em processos patológicos, tais como: epilepsia, isquemia cerebral, esquizofrenia, mal de Huntington e as doenças de Parkinson e Alzheimer^{1,6}.

Dentro do grupo de agonistas dos receptores glutamatérgicos, encontramos moléculas que possuem acentuada restrição conformacional pela ciclização da cadeia principal do aminoácido; entre esses agonistas estão os aminoácidos pertencentes à família dos cainóides.

1.2 Os Aminoácidos Cainóides.

Os aminoácidos cainóides são da classe de aminoácidos naturais não proteinogênicos que tem sido isolado de fontes marinhas e de fungos terrestres.

Os aminoácidos cainóides têm mostrado fortes atividades neuroexcitatórias no SNC dos vertebrados e invertebrados, onde eles atuam como análogos conformacionalmente restringidos do ácido glutâmico na sub-classe cainato (KA) dos receptores ionotrópicos do glutamato. Além da

⁵ Skinner, K. J. "The Chemistry of Learning and Memory" Chem. & Eng. News 1991, 7, 24

⁶ a) Watkins, J. C.; Larsen, P. K.; Honoré, T. *Trends in Pharmacol. Sci.* **1990**, *11*, 25. b) Lansbury Jr., P. T. *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 317.

potente atividade neuroexcitatória, os aminoácidos cainóides apresentam ainda propriedades inseticida e antihelmíntica⁷.

O representante principal desta família é o ácido caínico <u>1</u>, que foi o primeiro a ser isolado em 1953⁸ (Figura 2). Os representantes majoritários dessa classe de aminoácidos naturais são o ácido α -caínico <u>1</u>, os ácidos acromélicos A <u>2</u> e B <u>3</u>, o epímero em C-4 do ácido caínico, o ácido α -alocaínico <u>4</u> e o ácido domóico <u>5</u>^{8b} (Figura 2).

Os ácidos acromélicos A $\underline{2}$ e B $\underline{3}$ (Figura 2), são potentes aminoácidos neuroexcitátorios que foram isolados em quantidades de sub-miligrama em 1983⁹ do cogumelo venenoso *Clitocybe acromelalga* Ichimura.



Figura 2: Representantes majoritários dos aminoácidos cainóides naturais.

⁷ Maeda, K.; Kadama, T.; Tanaka, T.; Yoshiziemi, H.; Takemoto, T.; Nomoto, K.; Fujita, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 4892.

⁸ a) Murakami, S.; Takemoto, T.; Shimizu, Z. J. Pharm. Soc. Jpn. **1953**, 73, 1026. b) Para revisão sobre Cainóides, ver: Parsons, A. F. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 4149.

⁹ a) Konno, K.; Shirahama, H.; Matsumoto, T. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 939. b) Konno, K.; Hashimoto, K.; Ohfune, Y.; Shirahama, H.; Matsumoto, T. J. Am. Chem. Soc. **1988**, *110*, 4807.

De todos os representantes dos aminoácidos cainóides, os ácidos acromélicos A $\underline{2}$ e B $\underline{3}$ exibiram maior atividade neuroexcitatória, tanto em vertebrados quanto em invertebrados⁷. Apresentaram um efeito neuroexcitatório cerca de 100 vezes mais potente que o ácido caínico e 10 vezes mais potente que o ácido domóico em testes realizados com células neuronais extraídos de ratos e camudongos¹⁰.

O estudo da relação estrutura atividade biológica de todos os cainóides, assim como de seus análogos, pode trazer indícios do modo de ação dos aminoácidos excitatórios, além de permitir a compreensão dos mecanismos que desencadeiam as várias desordens neurodegenerativas.

Os ácidos caínico e os acromélicos A e B juntamente com seus análogos têm sido bastante utilizados em estudos na área de neurofarmacologia para a estimulação de células nervosas. A estimulação de células nervosas produz os efeitos patológicos de algumas doenças neurodegenerativass assim como por exemplo das doenças de Alzheimer e Huntington¹¹.

1.3 Isolamento dos Aminoácidos Cainóides.

O membro principal, (-)- α -ácido caínico <u>1</u> (originalmente conhecido como ácido digênico) foi o primeiro a ser isolado em 1953^{8a} da alga marinha japonesa *Digenea simplex* juntamente com seu epímero C-4 (+)-ácido alocaínico <u>4</u>.

¹⁰ a) Shinozaki, H.; Ishida, M.; Okamoto, T. *Brain Res.* **1986**, *399*, 395. b) Ishida, M.; Shinozaki, H. *Brain Res.* **1988**, *474*, 386.

¹¹ Cantrell, B. E.; Zimmermann, D. M.; Monn, J. A.; Kamboj, R. K.; Hoo, K. H. Tizzano, J. P.; Pulla, I. A.; Farrell, L. N.; Bleakman, D. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3617.

O (-)-ácido domóico 5 foi originalmente isolado de outra alga marinha japonesa Chondria armata¹². Desde então ele tem sido encontrado no fitoplankton canadense Nitzschia pungens e na alga Alsidium corallinum¹³. Existe também uma alta probabilidade de que outros "fitoplankton" como Amphora coffaeformis sejam os produtores principais de ácido domóico^{8b}.

Os ácidos acromélicos A 2 e B 3, em que o substituinte C-4 é uma 2piridona funcionalizada, foram primeiramente isolados em quantidades de sub-miligramas em 1983⁹. Eles foram encontrados em um organismo completamente diferente ao dos cainóides previamente descritos, que vem a ser os cogumelos venenosos de origem japonesa, *Clitocybe acromelalga*.

1.4 Química dos Cainóides.

Os aminoácidos cainóides são um grupo único de ácidos pirrolidino dicarboxílico não proteinogênicos. Todos eles apresentam três centros assimétricos nas posições 2, 3 e 4 do anel pirrolidina com a configuração relativa S^* , S^* e S^* ou R^* respectivamente, estrutura 6 (Figura 3). O substituinte na posição C-4 pode variar em natureza, embora geralmente contenham π -insaturação, e é ele quem dá origem a vários membros da família dos cainóides^{8b}.



Figura 3: Fragmento comum aos aminoácido cainóides.

 ¹² Daigo, K.; *J. Pharm. Soc. Jpn.* **1959**, *79*, 350.
 ¹³ Villac, M. C.; Roelki, A. L.; Villaneal, T. A.; Friyxell, G. A. *Hydrobiologia* **1993**, 213.

A estrutura do (-)- α -caínico <u>1</u> foi originalmente determinada como ácido 3-carboximetil-4-isopropenil-pirrolidina-2-carboxílico por uma série de degradações químicas clássicas e sínteses dos produtos das degradações por pesquisadores japoneses em 1955¹⁴. Morimoto foi o primeiro a deduzir a estereoquímica relativa dos substituintes do anel pirrolidínico por estudos químicos, e este tem sido amparado por evidência de cristalografía por Infração de Raio-X¹⁵. Desde então uma rigorosa determinação da estereoquímica tem sido provida por Oppolzer e Thirring¹⁶ em sua síntese concisa do (-)- α -caínico <u>1</u>. De maneira similar, a estrutura do epímero C-4, (+)-ácido alocaínico <u>4</u> foi estabelecida com base em evidências químicas e de cristalografía por Infração de Raio-X.

O ácido domóico <u>5</u> apresenta um fragmento octadienóico em C-4 (ver Figura 2) que foi originalmente determinado por uma combinação de degradações clássicas e técnicas espectrais¹⁷. Esses estudos levaram a uma proposta da geometria do dieno (*trans-, trans-*) com estereoquímica em C-5' indefinida. Esta foi depois redefinida como (*cis-, trans-*) e a estereoquímica absoluta em C-5' foi estabelecida como *R* por Ohfune e Tomita¹⁸ em sua síntese total do ácido domóico <u>5</u>. Mais recentemente¹⁹ uma análise de cristalografia por Infração de raios-X confirmou esta atribuição.

A determinação estrutural dos ácidos acromélicos A e B foram avaliadas apenas por dados espectrais de RMN ¹H, CD e U.V. devido à limitada quantidade de amostra isolada, na ordem de sub-miligramas⁹.

¹⁴ Ueno, Y.; Nawa, A.; Vexanagi, J.; Morimoto, H.; Nakamori, R.; Matsuoka, T. *J. Pharm. Soc. Jpn.* **1955**, *75*, 807.

¹⁵ Morimoto, H. J. Pharm. Soc. Jpn. **1955**, 75, 901.

¹⁶ Oppolzer, W.; Thining, K. J. Am. Chem. Soc. 1982, 104, 4978.

¹⁷ Takemoto, T.; Daigo, K.; Kondo, Y.; Kondo, K. J. Pharm. Soc. Jpn. **1966**, 86, 874.

¹⁸ Ohfune, Y.; Tomita, M. J. Am. Chem. Soc. 1982, 104, 3511.

¹⁹ Nomoto, K.; Takemoto, T.; Maeda, M.; In, Y.; Doi, M.; Inoue, M.; Ishida, T. *Biochem. Biophys. Res. Commum.* **1992**; *187*, 325.

Desses dados, as estruturas dos acromelatos A e B foram deduzidas por comparação com os compostos já relatados como ácido caínico e domóico. Desde então ambas estruturas dos acromelatos têm sido confirmadas por síntese total.

1.5 A Relação Estrutura Química e Atividade Biológica dos Cainóides.

O estudo inicial da atividade excitatória de uma variedade de aminoácidos acídicos mostrou os fatores estruturais específicos requeridos para a atividade neuroexcitatória com base em um modelo de receptor²⁰ "three point attachment". Dos compostos testados, a atividade excitatória foi identificada nos que apresentaram um grupo ácido na posição α a um grupo amino (preferencialmente primário) e dois ou três átomos de carbono distantes de um outro grupo ácido. Adição de grupos secundários à cadeia carbônica geralmente reduz a atividade excitatória. Os aminoácidos Laspartato e L-glutamato são os compostos protótipos^{4,21}.

Um estudo mais específico foi realizado com o receptor cainato KA e os aminoácidos cainóides. Esse estudo mostrou ser crucial para a elevada atividade e ligação ao receptor que todos os aminoácidos cainóides apresentem os três centros assimétricos com estereoquímica absoluta- S^{22} , numa relação trans (C2-C3) e cis (C3-C4)²³.

²⁰ Biscoe, T. J.; Evans, R. H.; Headeley, P. M.; Martin, M. R.; Watkins, J. C. Br. J. Pharmac. 1976, 58, 373.

 ²¹ Hollmann, M.; Heinemann, S. *Annu. Rev. Neurosci.* 1994, *17*, 31.
 ²² Hashimoto, K.; Ohfune, Y.; Shirahama, H. *Tetrahedron Lett.* 1995, *35*, 6235.
 ²³ Klotz, P.; Mann, A. *Tetrahedron Lett.* 2003, *44*, 1927.

A densidade de elétrons π no substituinte C-4 é essencial para atividade excitatória como demonstrado pela completa perda da neurotoxidade na redução da ligação dupla isopropenila do ácido caínico^{.24}.

Testes da atividade realizados com os aminoácidos cainóides que apresentam estereoquímica *allo* ou estereoquímica total *cis*, mostraram que ocorre um decréscimo na atividade neuroexcitatória. Os aminoácidos cainóides com estereoquímica total *cis* apresentaram uma importante atividade anticonvulsivante²⁵.

A elevada atividade despolarizante exibida pelos cainóides 4-ometoxi- e 4-o-hidroxifenil relativa ao ácido caínico tem levado a sugestão que "a atividade excitatória dos cainóides depende da energia do HOMO (highest occupied molecular orbital) dos sistemas π existentes nos substituintes em C-4"²⁶.

Os aminoácidos excitatórios parecem não somente mediar transmissão sinápticas normais ao longo do mecanismo excitatório, mas também participam da modificação na eficácia da transmissão ao longo da vida. Ironicamente, porém, a superativação dos receptores seletivos pode também mediar degeneração neuronal e consequente morte celular^{8b}.

²⁴ a) Ishida, M.; Shinozaki, H. *Br. J. Pharmacol.* **1991**, *104*, 873. b) Rondeau, D.; Gill, P., Chan, M.; Curry, K.; Lubell, W. D., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 771.

²⁵ Collins, J. F.; Dixon, A. J.; Badman, G.; de Sarro, G.; Chapman, A. G.; Hart, G. P.; Meldium, B. S. *Neurosci. Lett.* **1984**, *51*, 371.

²⁶ a) Hashimoto, K.; Matsumoto, T.; Nakamura, K.; Ohwada, S.; Ohuchi, T.; Horikawa, M.; Konno, K.; Shirahama, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10* 1373. b) Hashimoto, K.; Horikawa, M.; Shirahama, H. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 7047.

1.6 Aspectos Sintéticos dos Ácidos Acromélicos e alguns de seus Análogos Arilados.

Uma atual escassez dos aminoácidos cainóides extraídos de fontes naturais tem levado a inúmeras rotas sintéticas dos próprios aminoácidos e de seus potentes análogos arilcainatos²⁷.

A primeira síntese^{28,9b} dos ácidos acromélicos A e B²⁹ foi realizada tanto para confirmar as estruturas propostas, quanto para obter material suficiente para os ensaios biológicos.

Shirahama e colaboradores escolheram o ácido caínico <u>1</u> como material de partida, pois, segundo os pesquisadores, ele apresenta a vantagem de ser comercializado em sua forma opticamente pura, além de apresentar estereoquímica idêntica à da molécula alvo. Os dados espectrais dos materiais sintetizados foram idênticos aos dados dos produtos naturais em todos os aspectos, confirmando-se assim as estruturas e configurações absolutas dos ácidos acromélicos A e B.

Como visto no esquema retrossintético (Esquema 1), os intermediários chaves <u>7</u> e <u>8</u> foram levados a <u>2</u> e <u>3</u>, respectivamente, através da oxidação seqüencial do grupo metila a ácido carboxílico e da piridina a piridona. O aldeído α,β -insaturado <u>9</u> foi usado como precursor dos intermediários chave <u>7</u> e <u>8</u> visto que este pode ser facilmente convertido às piridinas. O aldeído <u>9</u> por sua vez foi obtido através da oxidação alílica do ácido caínico <u>1</u>^{9b}.

²⁷ Tremblay, J.-F. Chem. Eng. News 2000, 78, January 3, 14.

²⁸ a) Konno, K.; Hashimoto, K.; Ohfune, Y.; Shirahama, H.; Matsumoto, T. *Tetrahedron Lett.* 1986, 27, 607. b) Hashimoto, K.; Konno, K.; Shirahama, H.; Matsumoto, T. *Chem. Lett.* 1986, 1399.

²⁹ Para uma importante revisão sobre estratégias sintéticas dos ácidos acromélicos ver: Jauffret, P.; Ostermann, C.; Kaufmann, G. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 1983.



Esquema 1: Esquema retrosintético na síntese dos ácidos acromélicos segundo Shirahama e colaboradores.

Logo após a primeira síntese realizada pelo grupo de Shirahama; Baldwin e Li, em 1988³⁰, obtiveram o composto <u>2</u> através da síntese enantiosseletiva via uma reação de ciclização mediada por cobalto e um iodeto <u>10</u>. A pirrolidina resultante <u>11</u> isolada como uma mistura 1:1 dos isômeros *Z* e *E* (Esquema 2), permitiu a obtenção de <u>2</u> em mais 16 etapas.

³⁰ Baldwin, J.; Li, C-S. J. Chem Soc., Chem. Commun., 1988, 261.



Esquema 2: Ciclização mediada por cobalto e obtenção da pirrolidina 11.

Em seguida, Takano e colaboradores³¹ utilizaram uma reação de cicloadição [1,3] dipolar de um ilídio azometino na síntese total do ácido acromélico A. Como mostra o (Esquema 3), aquecendo-se a aziridina <u>12</u>, preparada a partir do (*S*)-O-benzilglicidol, em 1,2-diclorobenzeno a 200°C em um tubo selado, gera um ilídeo azometino que cicliza para levar a lactona <u>13</u> em 73% de rendimento como um único diastereoisômero. Para obtenção de <u>2</u> a partir de <u>13</u>, foi necessário a abertura da lactona, epimerização em C-2, oxidação do anel piridina, esterificação e por fim hidrólise. Os mesmos pesquisadores aplicaram essa mesma metodologia na obtenção do ácido acromélico B³².



Esquema 3: Reação de cicloadição [1,3] dipolar da aziridina <u>12</u> e formação da pirrolina trissubstituída <u>13</u>.

³¹ Takano, S.; Iwabuchi, Y.; Ogasawara, K. J. Am. Chem. Soc. 1987, 109, 5523.

³² Takano, S.; Tomila, S.; Iwabuchi, Y.; Ogasawara, K. *Heterocycles* **1989**, *29*, 1473.

Outra abordagem para a síntese do ácido acromélico A $\underline{2}$ foi descrita por Baldwin e colaboradores³³ que utilizaram como etapa chave à obtenção do catecol 17 através da reação de acoplamento cruzado de Suzuki de um ácido borônico apropriado <u>16</u> com o vinil triflato <u>15</u>³⁴ (Esquema 4).



Esquema 4: Reação de acoplamento de Suzuki e obtenção do catecol 17.

Com esse trabalho os pesquisadores mostraram que os substituintes piridona dos ácidos 2 e 3 podem ser construídos através da clivagem oxidativa de catecóis com subseqüente reciclização. O catecol 17 obtido foi convertido ao ácido acromélico A 2 em mais 7 etapas (Esquema 5).



Esquema 5: Clivagem oxidativa do catecol 17 e reciclização a piridona do ácido acromélico A 2.

³³ a) Baldwin, J.; Bamford, S.; Fryer, A.; Rudolph, M.; Wood, M. Tetrahedon 1997, 53, 5233. b) Baldwin, J.; Fryer, A.; Pritchard, G.; Spyvee, M.; Whitehead, R.; Wood, M. *Tetrahedon* **1998**, *54*, 7465. ³⁴ O vinil triflato <u>15</u> pode ser rapidamente obtido em 6 etapas apartir da t*rans*-4-hidroxi-*L*-prolina em 34%

de rendimento total.

A notável propriedade neurofisiológica dos ácidos acromélicos levou os pesquisadores Shirahama e colaboradores à síntese de seus análogos, que pudessem levar a agonistas ou antagonistas mais potentes do glutamato.

Com esse intuito foram sintetizados uma série de análogos dos acromelatos, 4-fenil-substituídos <u>18</u> a <u>21</u> (Figura 4), e testados quanto as suas atividades neurofisiológicas³⁵.



Figura 4: Análogos acromelatos.

Na rota sintética empregada o intermediário chave, o tosilato <u>22</u>, foi obtido após uma série de transformações sintéticas tendo a L-*trans*-Hidroxiprolina como material de partida que culminou em 16 etapas e rendimento total moderado. Em seguida o composto <u>22</u> foi submetido a reações de substituições com vários reagentes de aril cobre para levar a produtos substituídos com retenção da configuração em C-4 (Esquema 6).

³⁵ Hashimoto, K.; Shirahama, H. Tetrahedron Lett. 1991, 32, 2625.



Esquema 6: Síntese de análogos dos ácidos acromélicos por Hashimoto e Shirahama.

Através da etapa de reação chave de substituição do tosilato $\underline{22}$ com reagentes de aril cobre foram obtidos os compostos $\underline{23}$ (Ar=fenil) com 57% de rendimento, o composto $\underline{24}$ (Ar=*o*-metoxifenil): 58% de rendimento, o composto $\underline{25}$ (Ar=*p*-metoxifenil): 59% de rendimento e o composto $\underline{26}$ (Ar=*o*,*p*-dimetoxifenil):71% de rendimento. Seguindo essa rota sintética, os aminoácidos $\underline{18}$ a $\underline{21}$ foram obtidos, a partir da L-*trans*-Hidroxiprolina em 21 etapas.

O análogo fenila $\underline{18}^{36}$ mostrou atividade comparável ao ácido caínico. Porém, o derivado *o*-metoxifenila $\underline{19}^{35,37}$ foi 3 a 5 vezes mais potente que o

³⁶ Outras sínteses relatadas na literatura para o composto <u>18</u>: a) Horikawa, M.; Shima, Y.; Hashimato, K.; Shirahama, H. *Heterocycles* **1995**, *40*, 1009. b) Horikawa, M.; Shirahama, H. *Synlett.* **1996**, 95. c) Kamabe, M.; Miyazaki, T.; Hashimato, K.; Shirahama, H. *Heterocycles* **2002**, *56*, 105.

³⁷ Outras sínteses relatadas na literatura para o composto <u>19</u>: (a) Maeda, H.; Kraus, G. A. *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 2314. (b) Maeda, H.; Kraus, G. A. *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 943.

ácido acromélico A, e é o mais potente reagente excitatório conhecido até o momento⁴.

Os análogos *p*- metoxifenila <u>20</u> e o *o,p*-dimetoxifenila <u>21</u>, que por estudos de cálculo (*ab initio*) indicaram maior potência na atividade neuroexcitatória do que o análogo <u>19</u>, apresentaram menor atividade do que o próprio ácido caínico. Com estes resultados, os autores sugerem que o receptor cainato pode não aceitar grupos volumosos na posição *para* dos substituintes em C4³⁵. Foi testado ainda o análogo 4-hidroxifenila (Figura 5), que teve sua síntese obtida por outra rota^{37,38} e que exibiu maior atividade que ácido acromélico B.



Figura 5: Análogo 4-hidroxifenil do ácido acromélico.

O análogo dos ácidos acromélicos, o composto *o*-metoxifenila <u>19</u>, que apresentou potência neuroexcitatória cerca de 3 a 5 vezes maior que o próprio ácido acromélico A, foi primeiro sintetizado por Shirahama e colaboradores^{26b} em 1990.

Para a síntese de <u>19</u>, Shirahama e colaboradores utilizaram como etapa chave uma reação intramolecular de Diels-Alder via enolização foto induzida do grupo aldeído no composto <u>27</u> que levou à formação do composto <u>28</u> com o anel pirrolidina devidamente substituído (Esquema 7).

³⁸ (a) Hashimato, K.; Horikawa, M.; Ishida, M.; Shinozaki, H.; Shirahama, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 743. (b) Ahmed, A.; Bragg, R.; Clayden, J.; Tchabanenko, K. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 3407.



Esquema 7: Primeira síntese do composto *o*-metoxi fenila <u>19</u>, análogo dos ácidos acromélicos.

A reação de Diels-Alder foi realizada por irradiação da lâmpada de mercúrio a média-pressão em tolueno a 15 °C que levou à formação de uma mistura de álcoois cíclicos numa razão de 99:1 em 64% de rendimento. Segundo os autores, o carbamato cíclico foi essencial no controle da conformação do estado de transição da reação de Diels-Alder que levou a obtenção do composto de configuração desejada.

Após reações de hidrólise do carbamato e proteção, seguido por oxidação do álcool obtido e oxidação de Baeyer-Villiger levaram ao intermediário avançado <u>29</u>. O composto de interesse <u>19</u> foi obtido a partir de <u>29</u> em mais 3 etapas. Essa metodologia permite também a obtenção do análogo hidroxifenila (Esquema 7).

Um outro grupo de pesquisadores que realizou a síntese do composto <u>19</u>, foi Kraus e Maeda³⁷, que utilizaram como etapa chave uma reação de adição de Michael a partir do éster dimetílico do ácido α -ceto glutárico e nitroestireno, uma rota bastante direta, porém racêmica (Esquema 8).

As melhores condições encontradas (*t*-BuOK, THF) forneceram o nitro diester <u>**30**</u> em 45% como uma mistura de diastereoisômeros em 14:1. A estereoquímica atribuída foi confirmada pela conversão ao composto já conhecido <u>**34**</u>.



Esquema 8: Síntese do composto 19 por Kraus e Maeda.

Após redução de <u>31</u> com cianoborohidreto de sódio em meio ácido (HCl em MeOH), uma mistura do éster hidroxiamino foi obtido com rendimentos de 4% de <u>32</u> e 71% de <u>33</u>. Mesmo após epimerização do centro em C-2 com LDA, o composto desejado <u>34</u> foi obtido em uma razão de 7:1 com seu epímero.

Recentemente Shirahama e colaboradores³⁹ publicaram uma nova síntese do composto <u>19</u>, seguindo a mesma abordagem realizada por eles na primeira síntese publicada em 1990^{26b} (ver Esquema 7), com poucas mudanças.

³⁹ Itadani, S.; Shigeyuki, T.; Tanigawa, C.; Hashimoto, K.; Shirahama, H. Tetrahedron Lett. 2002, 43, 7777.

Nessa nova rota sintética após a etapa chave do processo, a reação de ciclização radicalar de um radical benzila, o produto da ciclização <u>37</u> pôde ser obtido em bons excessos diastereoméricos na razão de 98:2 em favor do produto desejado *cis*, em 41 % de rendimento. A partir do composto <u>37</u> foram necessárias mais 7 etapas para fornecer o composto <u>19</u> desejado (Esquema 9).



Esquema 9: Síntese do composto 19 por Shiraham e colaboradores.

Até o momento, são essas as sínteses encontradas na literatura para o análogo dos ácidos acromélicos que apresenta a maior atividade neuroexcitatória, o composto *o*-metoxifenila <u>19</u>; ou seja 4 sínteses.

O grupo do pesquisador Shirahama desenvolveu 3 das quatro sínteses apresentadas para o composto <u>19</u> e vem ao longo dos anos tentando aperfeiçoar sua síntese e obter o composto alvo em um número menor de

etapas e melhor rendimento global. O grupo do professor Kraus também obteve o análogo dos ácidos acromélicos *o*-metoxifenila <u>19</u> seguindo uma rota sintética bastante curta porém racêmica.

1.7 A Reação de Arilação de Heck.

A reação de arilação de Heck, descoberta independentemente por Mizoroki e Heck no início da década de 1970⁴⁰, estabelece uma ligação entre olefinas e anéis aromáticos utilizando o paládio como catalisador.

A utilização de metais de transição como catalisadores tem se mostrado uma maneira suave e eficaz para a formação de ligações $C-C^{41}$.

O primeiro experimento da reação de Heck foi realizado utilizando cloreto de fenilmercúrio, cloreto de paládio, em acetonitrila, sob 1 atm de etileno a temperatura ambiente (Esquema 10). A reação ocorria em condições suaves com alquenos, dienos e alquinos mesmo na presença de outros grupos funcionais. Porém, essa reação apresentava dois grandes problemas, a toxicidade dos reagentes de mercúrio além da necessidade de quantidades estequiométricas do paládio^{40b}.



Esquema 10: A primeira reação de Heck.

⁴⁰ a) Mizoroki, T.; Mori, K.; Osaki, A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1971**, *44*, 581. b) Heck, R. F.; Nolley, J. P. J. Org. Chem. **1972**, *37*, 2320. c) Heck, R.F. *In* Comprehensive Organic Synthesis. Vol. 4. *Edited by* B.M. Trost and I. Fleming. Pergamon Press, Oxford. **1991**. p. 833.

⁴¹ Tsuji, J. *Palladium reagents and catalysts: Innovations in organic synthesis.* Jonh Wiley & Sons, New York, **1995**. Para revisão recente sobre reações de acoplamento catalisadas por paládio ver: a) Nicolaou, K.; Bulger, P. G. Sarlah, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4442. b) Cacchi, S.; Fabrizi, G. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2873.
Ainda na década de 70, iniciaram-se os estudos com haletos de arila, substituindo os sais de mercúrio, uso do paládio em quantidades catalíticas, e de fosfinas como ligantes quirais⁴².

Atualmente, na sua forma tradicional, faz-se o acoplamento entre haletos ou triflatos de arila ou vinila com olefinas, na presença de base e mediada por uma espécie catalítica de paládio⁴³ (Esquema 11).



Esquema 11: Esquema geral da reação de Heck tradicional.

A maioria das reações de acoplamento C-C que utilizam paládio como catalisador, têm como etapa comum a adição oxidativa de uma espécie RX a um complexo de Pd(0), onde R é um esqueleto carbônico e X é um grupo de saída.

Inicialmente, utilizava-se apenas brometo de arila e iodetos como agentes de arilação. Mais tarde, variantes foram desenvolvidas utilizando

⁴² a) Heck, R. F.; Dieck, H. A. J. Am. Chem. Soc. **1974**, 96, 1133. b) Heck, R. F.; Schoenberg, A.; Bartoletti, I. J. Org. Chem. **1974**, 39, 3318. c) Heck, R. F.; Dieck, H. A. J. Organomet. Chem. **1975**, 93, 259.

⁴³ Para revisão recente sobre reações de Heck ver: a) Alonso, F.; Beletskaya, I. P.; Yus, M. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 11771. b) Dounay, A. B.; Overman, L. E. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2945. c) Beletskaya, I. P. Cheprakov, A. V. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 3009.

triflatos aromáticos⁴⁴, cloretos de aroila⁴⁵, cloretos de sufonil arila⁴⁶, anidridos aroila⁴⁷, cloretos de arila⁴⁸, e arilsilanóis⁴⁹.

A etapa de adição oxidativa é dependente da natureza de RX. Bons grupos de saída X favorecem a ativação de RX para a adição oxidativa⁵⁰, bem como grupos R tendo ligado a si funções orgânicas retiradoras de elétrons. Essas características limitam o número de substâncias que eventualmente possam participar dessas reações de acoplamento. Entre os grupos de saída, os mais tradicionais são haletos e triflatos. Uma alternativa que vem sendo estudada é a utilização de sais de diazônio como RX.

As reações de arilação de Heck empregando sais de diazônio estão entre as mais novas arilações de Heck estudadas. Recentemente, tem ressurgido o interesse no uso de sais de diazônio como eletrófilo na síntese de produtos naturais complexos, demonstrando a viabilidade dessa arilação de Heck⁵¹.

Matsuda, Kikukawa e colaboradores⁵² apresentaram em 1977 o primeiro trabalho onde sais de diazônio são utilizados na reação de Heck. Sais de diazônio contendo grupos doadores de elétrons apresentaram melhores resultados que aqueles que contém grupos retiradores de elétrons. Este resultado é contrário aos protocolos tradicionais para arilação de Heck utilizando haletos e triflatos de arila.

⁴⁴ Ritter, K. Synthesis, 1993, 735.

⁴⁵ Blaser, H. -U. & Spenser, A. J. Organomet. Chem. **1982**, 233, 267.

⁴⁶ Miura, M.; Hashimoto, H.; Itoh, K.; Nomura, M. J. Chem. Soc. Perk. Trans. 1990, 2207.

⁴⁷ Stephan, M. S.; Teunissen, A. J. J. M.; Verzijl, G. K. M.; Vries, J. G. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1998, 37, 662.

⁴⁸ Littke, A. P.; Fu, G. C. J. Org. Chem. **1999**, 64, 10.

⁴⁹ Hirabayashi, K.; Nishihara, Y.; Mori, A.; Hiyama, T. Tetrahedron Lett. 1998, 39, 7893.

⁵⁰ Jutand, A.; Mosleh, A. Organomet. **1995**, *14*, 1810.

⁵¹ a) Andrus, M. B.; Song, C.; Zhong, J. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2079. b) Oliveira, D. F.; Severino, E. A.; Correia, C. R. D. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2083. c) Severino, E. A.; Correia, C. R. D. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3039.

⁵² Kikukawa, K.; Matsuda, T. Chem. Lett. 1977, 159.

A utilização de sais de diazônio tem a vantagem de gerar a espécie de paládio catiônico, com a extrusão de N_2 , no meio reacional. Não há necessidade da adição de sais de prata, condição necessária quando se deseja acelerar a etapa de adição oxidativa ou eliminação redutiva do ciclo catalítico, quando a espécie de arilação tem como grupo abandonador um haleto ou triflato.

O mecanismo da reação de Heck pode ser explicado através de um ciclo catalítico composto por quatro etapas principais: adição oxidativa, inserção migratória, β -eliminação e eliminação redutiva. O ciclo catalítico é dirigido pela reatividade do paládio e está relacionado à habilidade da espécie Pd(0) em sofrer adição oxidativa com várias ligações C-X. O (Esquema 12) representa a seqüência de reações que compõe o ciclo catalítico para a variante da reação de Heck com haletos de arila ou vinila que leva ao conhecido mecanismo neutro^{43,53}. O mecanismo neutro é favorecido para as ligações Pd-X fortes (X = I, Br, Cl, etc).



Esquema 12: Mecanismo proposto para a reação de Heck com Pd neutro.

⁵³ a) Cabri, W.; Candiani, I. Acc. Chem. Res. **1995**, 28, 2. b) de Meijere, A.; Meyer, F. E. Angew. Chem. Int. Ed. **1994**, 33, 2379.

Para a variante da reação de Heck com sais de arenodiazônio⁵⁴ ou na presença de triflatos o mecanismo envolvido é conhecido como mecanismo catiônico (Esquema 13). Nesses casos o mecanismo iônico é favorecido pela presença de ligações Pd-X lábeis ($X = OTf, N_2$).

Complexos neutros de paládio também podem ser convertidos em complexos catiônicos pela adição de sais de prata ou tálio como aditivos. Nesse caso ocorre à abstração irreversível do haleto formado na etapa de adição oxidativa, levando à obtenção de uma espécie de paládio catiônico⁵⁵.



Esquema 13: Mecanismo da reação de Heck utilizando sais de arenodiazônio, mecanismo com Pd catiônico.

1.8 Reação de Arilação de Heck em Olefinas Cíclicas.

Um grande número de olefinas cíclicas e acíclicas tem sido convertidas aos correspondentes sistemas arilados pela reação de Heck, porém o emprego dessa metodologia na arilação da 3-pirrolina é particularmente escasso.

⁵⁴ a) Amatore, C.; Jutand, A. J. Organomet. Chem. 1999, 576, 254. b) Amatore, C.; Jutand, A. Acc. Chem. Res. 2000, 33, 314. ⁵⁵ Abelman, M. W.; Oh, T.; Overman, L. E. J. Org. Chem. **1987**, 52, 4133.

Hallberg e colaboradores⁵⁶ utilizaram a reação de Heck entre a 3pirrolina **39** e haletos e triflatos de arila obtendo uma mistura de produtos arilados e isomerizados (Esquema 14).



Esquema 14: Reação de Heck da 3-pirrolina 39.

Contudo, com o emprego de vários aditivos como sais de prata ou tálio, fosfinas e aminas, o produto desejado, o enecarbamato 4-arilado <u>40</u>, foi obtido em melhores rendimentos (Esquema 15). O método reacional empregado é bastante laborioso exigindo cuidados especiais para manter o meio reacional ausente de umidade e oxigênio. Outra desvantagem do método é a utilização da olefina na ordem de 10 equivalentes em relação ao haleto ou triflato de arila, visto que o enecarbamato formato é mais reativo que a olefina de partida, podendo sofrer uma segunda reação de Heck.

⁵⁶ a) Sonesson, C.; Larhed, M.; Nyqvist, C.; Hallberg, A. J. Org. Chem. **1996**, 61, 4756. b) Sonesson, C.; Wikstrom, H.; Smith, M. W.; Svensson, K.; Carlsson, A.; Waters, N. Bioorg. Med. Chem. Lett. **1997**, 7, 241.



Esquema 15: Reação de Heck da 3-pirrolina 39 utilizando aditivos de prata.

Recentemente Correia e colaboradores obtiveram enecarbamatos arilados em C-4 empregando a 3-pirrolina <u>43</u> e tendo como agentes arilantes sais de arenodiazônio⁵⁷. Os enecarbamatos foram obtidos em duas etapas, na primeira etapa a arilação da *N*-Boc-3-pirrolina com uma série de sais de arenodiazônio contendo substituintes doadores ou retiradores de elétrons, usando um sistema bifásico de CCl_4/H_2O com $Pd(OAc)_2$ como catalisador levou a formação dos correspondentes lactamois <u>44</u>. Numa segunda etapa os lactamois foram imediatamente submetidos a eliminação com anidrido trifluoroacético e 2,6-lutidina levando a formação do enecarbamatos <u>45</u> em bons rendimentos globais (Esquema 16).

Contrariamente a arilação tradicional, o método usando sais de diazônio é bem mais rápido, não requer o uso de fosfinas ou de largo excesso da olefina, e pode ser obtido em condições mais práticas do que as relatadas por Hallberg.

⁵⁷ Carpes, M. J. S.; Correia, C. R. D. Synlett 2000, 7, 1037.



Esquema 16: Reação de Heck da 3-pirrolina <u>43</u>.

Outro importante precedente da literatura do uso de sais de diazônio na reação de Heck com olefinas cíclicas que podemos destacar foi relatado por Desmazeau, onde a olefina 1-fenilfosfol-3-ene-1-óxidos <u>46</u> foi arilada com uma série de sais de arenodiazônio levando a bons rendimentos de produtos de arilação⁵⁸. Esse substrato é precursor potencial de novos ligantes monofosfinas baseado no esqueleto de fosfolano (Esquema 17). A estereoquímica do composto <u>47</u> mostra que a reação é totalmente estereosseletiva, resultando da aproximação do intermediário arilpaládio pela face menos impedida de <u>46</u>.



Esquema 17: Reação de Heck com a olefina 1-fenilfosfol-3-ene-1-óxidos 46.

A aplicação da reação de Heck com sais de arenodiazônio na síntese de produtos naturais está exemplificada na literatura pelos trabalhos de

⁵⁸ Desmazeau, P.; Legros, J-Y; Fiaud, J-C *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 6707.

Correia e colaboradores na síntese dos alcalóides codonopsina <u>48</u> e codonopsinina <u>49</u>^{51b,c}. O composto natural (-)-codonopsina apresenta atividade hipotensiva.

Nestes trabalhos, a etapa chave é o emprego de sais de diazônio frente às condições de Heck para a geração estereosseletiva de novo centro estereogênico e isomerização da dupla ligação para posterior funcionalização (Esquema 18). A utilização desta variante da reação de Heck se deu em função dos baixos rendimentos ao se aplicar às condições tradicionais de Heck.



(1-2mol%), CH₃CN, NaOAc, t.a., 5-30 min.

Esquema 18: Reação de Heck como etapa chave na síntese dos alcalóides naturais codonopsina <u>48</u> e codonopisinina <u>49</u>.

Desde 1999 o grupo do pesquisador Correia^{51b,c,59} vem empregando sais de diazônio como agente de arilação na reação de Heck na obtenção de compostos biologicamente ativos, demonstrando a viabilidade dessa metodologia.

Até o momento não existem exemplos na literatura da reação de arilação Heck com sais de arenodiazônio utilizando como olefina uma 3-desidroprolina quiral.

⁵⁹ a) Carpes, M. J. S.; Correia, C. R. D. *Tetrahedron Lett.* 2002, *43*, 741. b) Severino, E. A.; Costenaro, E. R.; Garcia, A. L. L.; Correia, C. R. D. *Org. Lett.* 2003, *5*, 305. c) Garcia, A. L. L.; Correia, C. R. D. *Tetrahedron Lett.* 2003, *44*, 1553. d) Garcia, A. L. L.; Carpes, M. J. S.; Montes de Oca, A. C. B.; Santos, M. A. G.; Santana, C. C.; Correia, C. R. D. *J. Org. Chem.* 2005, *70*, 1050.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

Sintetizar a olefina quiral 3-desidroprolina <u>50</u> a partir da 4-*trans*hidroxi-prolina seguindo o procedimento descrito na literatura e comparar os valores de rotação ótica.

Realizar um estudo das reações de arilação de Heck utilizando como olefina, a 3-desidroprolina <u>50</u>, tendo como grupos de arilação vários sais de arenodiazônio para a obtenção de 4-aril-2-desidroprolinas.

Submeter a 3-desidroprolina <u>50</u> a condições de reação de Heck tradicionais utilizando como agentes arilantes haletos ou triflatos de arila a fim de obter 4-aril-2-desidroprolinas. Comparar os resultados obtidos com a metodologia que utiliza como grupos de arilação sais de arenodiazônio.

Aplicar os adutos de Heck na síntese estereosseletiva de análogos de arilcainatos, especialmente na síntese total do análogo do ácido acromélico, o composto <u>19</u>.

O Esquema 19 mostra uma análise retrossintética para obtenção do análogo *o*-metoxifenila <u>19</u>, onde a reação de arilação de Heck da desidroprolina <u>50</u> com o sal de diazônio <u>51</u> é a etapa chave da rota sintética.

O composto *o*-metoxifenila <u>19</u> pode ser obtido a partir do composto <u>96</u> por uma seqüência de reações em 4 etapas que envolvem uma reação de hidrogenação, descarboxilação, epimerização do centro em C-2 e hidrólise. O composto <u>96</u> pode ser obtido a partir do éster α,β -insaturado <u>52</u> após reação de Michael, selenilação e posterior eliminação oxidativa. O éster α,β insaturado <u>52</u> pode ser obtido a partir da reação de arilação de Heck da 3desidroprolina <u>50</u> com o sal de diazônio <u>51</u>. A 3-desidroprolina <u>50</u> é facilmente obtida através da 4-*trans*-hidroxi-prolina produto disponível comercialmente.



Esquema 19: Esquema retrossintético na síntese do composto o-metoxifenila 19.

3 Resultados e Discussão

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Obtenção do ester metílico da (S)-N-metoxicarbonil-3,4desidroprolina <u>50</u>.

Para o estudo da reação de Heck, primeiramente sintetizamos, em escala de vários gramas, o ester metílico da (S)-N-metoxicarbonil-3,4- desidroprolina 50.

Foi utilizado como material de partida a (2S,4R)-4-hidróxi-prolina, que foi submetida a uma reação de dupla proteção simultânea, envolvendo uma reação de esterificação do ácido carboxílico e uma acilação do grupo amina na presença de cloroformiato de metila e carbonato de potássio em metanol segundo a metodologia já descrita na literatura (Esquema 20)⁶⁰. O ester metílico da (2S,4R)-*N*-metoxicarbonil-4-hidroxiprolina <u>53</u> foi obtida em 94% de rendimento e sua estrutura foi confirmada pelas análises de IV, RMN ¹H, RMN de ¹³C e massa de baixa resolução.



Esquema 20: Proteção simultânea da prolina.

Todas as análises estão de acordo com os dados apresentados na literatura⁶⁰ (ver espectros páginas 145 a 148). Nos espectros de RMN ¹H e

⁶⁰ Kanth, J. V. B.; Periasamy, M. Tetrahedron 1993, 49, 5127.

de RMN de ¹³C verificamos que os sinais apresentaram-se duplicados devido a presença de rotâmeros. Os rotâmeros são causados pela difícil rotação em torno da ligação N-C=O, que possui um carater parcial de dupla ligação. A energia elevada na barreira rotacional destes compostos faz com que sejam detectadas duas substâncias diferentes durante a análise de ressonância magnética nuclear⁶¹.

Com a L-*trans*-hidróxi-prolina protegida <u>53</u> em mãos, seguimos o procedimento descrito por Wong e colaboradores⁶² para obtenção da 3-desidroprolina <u>50</u>. A primeira etapa consistiu na proteção da hidroxila secundária com cloreto de mesila na presença de trietilamina e quantidade catalítica de DMAP em cloreto de metileno. O ester metílico da (2S,4R)-N-metoxicarbonil-4-mesiloxiprolina <u>54</u> foi assim obtido em 94% de rendimento (Esquema 21).

Esquema 21: Obtenção do mesilato 54.

Análise do espectro de IV do composto <u>54</u> mostrou uma banda em 1342 cm⁻¹ referente à deformação axial do grupo S=O. O espectro de RMN de ¹H apresentou um singleto em δ 3,06 com integração para 3 hidrogênios atribuídos aos hidrogênios da metila do grupo metanosulfonato. O espectro de RMN de ¹³C mostrou um sinal em δ 78,5 referente ao carbono do anel

⁶¹ Wilson, J. C.; Munro, S. L. A. Magnetic Resonance in Chemistry 1995, 33, 367.

⁶² Lin, C-C; Shimazaki, M.; Heck, M -P.; Aoki, S.; Wang, R.; Kimura, T.; Ritzen, H.; Takayama, S.; Wu, S -H.; Weitz-Schmidt, G.; Wong, C -H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6826.

pirrolidínico que contem o grupo metanosulfonato e o sinal em δ 52,9 do carbono da metila desse mesmo grupo.

A etapa seguinte consistiu na substituição do mesilato em C-4 pela fenilselenenila, empregando-se o fenilselenolato gerado *in situ* a partir de difenildiselenila com boroidreto de sódio. O produto da substituição, o ester metílico da (2S,4S)-N-metoxicarbonil-4-fenilselenoprolina <u>55</u> foi alcançado em 93% de rendimento (Esquema 22).



Esquema 22: Obtenção do composto 55.

O espectro de RMN de ¹H do composto <u>55</u> não apresentou o singleto em δ 3,06 referente aos hidrogênios da metila do grupo metanosulfonato e apresentou dois multipletos na região dos aromáticos confirmando a substituição.

A última etapa para preparação da olefina <u>50</u> consistiu na eliminação oxidativa do substituinte fenilselenenila pelo tratamento com peróxido de hidrogênio em meio básico de piridina em diclorometano, fornecendo o ester metílico da (*S*)-*N*-metoxicarbonil-3,4-desidroprolina <u>50</u> em 75% de rendimento (Esquema 23). O rendimento global na obtenção do ester metílico da (*S*)-*N*-metoxicarbonil-3,4-desidroprolina <u>50</u> a partir da (2S,4R)-4-hidroxi-prolina foi de 67%.



Esquema 23: Obtenção da 3-desidroprolina 50.

No espectro de RMN de ¹H do composto <u>50</u> observa-se os sinal dos hidrogênios olefínicos como dois multipletos em δ 6,02-5,95 (H-4) e 5,78-5,72 (H-3) respectivamente. O espectro de ¹³C apresenta os sinais dos carbonos olefínicos em δ 129 e 124, além dos sinais das metilas e das carbonilas que confirmam a formação do composto (ver espectro pag. 159). A análise por espectrometria de massas de alta resolução apresentou o pico do íon molecular esperado para a composição C₈H₁₁NO₄ [M⁺ (m/z) calculado 185,0688; obtido 185,0628]. O valor da rotação ótica medido foi de -334 (c 1, CHCl₃) porém esse dado não nos permitiu comparação direta com o dado da literatura visto que a 3-desidroprolina relatada por Wong e colaboradores⁶² apresenta o grupo Cbz como protetor do nitrogênio.

Para confirmar a obtenção do composto <u>50</u> com alta pureza óptica, realizamos a hidrólise do éster metílico em C-2 e conseqüente desproteção do grupamento amino com HCl 6N a 110 °C por 48h, levando a obtenção da (S)-3,4-desidroprolina <u>56</u>, composto já relatado na literatura⁶³, após purificação em resina de troca iônica de Dowex em 92% de rendimento (Esquema 24).

⁶³ Rueger, H.; Benn, M. H. Can. J. Chem., 1982, 60, 2918.



Esquema 24: Obtenção da 3,4-desidroprolina 56.

A estrutura de <u>56</u> foi confirmada pelas análises de RMN de ¹H, RMN de ¹³C e IV e comparado com os dados da literatura⁶³.

Comparação do valor de rotação ótica do composto <u>**56**</u> $[\alpha]_D^{24} = -406$ (c 1,4, água) com o valor relatado na literatura $[\alpha]_D^{27} = -403$ (c 1,0, água)⁶³ confirmou a formação da pirrolina em alta pureza ótica.

De posse do ester metílico da (*S*)-*N*-metoxicarbonil-3,4-desidroprolina <u>50</u>, partimos para a etapa chave da síntese que é a reação de arilação de Heck empregando sais de arildiazônio como agentes de arilação.

3.2 Estudo Metodológico da Reação de Heck com Sais de Arenodiazônio.

Iniciamos nossos estudos da reação de Heck com sais de diazônio empregando as mesmas condições de reação de Heck desenvolvidas por Carpes e Correia em 2000^{64} . Em seu trabalho Carpes e Correia utilizaram como olefina a *N*-Boc-3-pirrolina <u>43</u> (Esquema 16, pág 29) que é bastante semelhante a 3-desidroprolina <u>50</u>, nossa olefina de estudo.

⁶⁴ Carpes, M. J. S.; Correia, C. R. D. Synlett 2000, 7, 1037.

Realizamos, portanto, a reação de Heck utilizando a 3-desidroprolina <u>50</u> (1 equivalente), 2 mol % de Pd(OAc)₂ em uma mistura 1:1 de CCl₄/H₂O, a temperatura ambiente. Nesse ensaio foram utilizados os sais de tetrafluoroborato de 4-metoxifenildiazônio e tetrafluoroborato de 4-nitrofenildiazônio⁶⁵. Em ambas reações foi observado o escurecimento do meio reacional e uma pequena evolução de gás (N₂), porém mesmo após 24 de reação, as análises por CCD e CG, indicavam apenas a presença da olefina de partida (Tabela 1, entradas 1 e 2).

⁶⁵ Os sais de diazônio foram preparados através da reação de Schiemann, e os pontos de fusão comparados com o relatado na literatura: Roe, A. *Org. React.* **1949**, 105, 193.

Entrada	Solventes	Pd(OAc) ₂	Temp.	Sais de Diazônio	Resultados
1	CCl ₄ /H ₂ O (1:1)	2 mol %	t.a.	<i>p</i> -NO ₂ -Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
2	CCl ₄ /H ₂ O (1:1)	2 mol %	t.a.	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
3	CCl ₄ /H ₂ O (1:1)	2 mol %	35 °C	p-NO ₂ -Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
4	CCl ₄ /H ₂ O (1:1)	2 mol %	35 °C	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
5	CCl ₄ /H ₂ O (1:1)	2 mol %	60 °C	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
6	CCl ₄ /H ₂ O (1:1)	5 mol %	35 °C	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
7	CCl ₄ /H ₂ O (1:1)	5 mol %	60 °C	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
8	CCl ₄ /H ₂ O (1:1)	10 mol %	60 °C	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
9	CCl ₄ /H ₂ O (1:1)	10 mol %	60 °C	p-NO ₂ -Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
10	CH ₃ COCH ₃ /H ₂ O (1:1)	2 mol %	t.a.	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
11	CH ₃ COCH ₃ /H ₂ O (1:1)	2 mol %	60 °C	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
12	CH ₃ CN/H ₂ O	5 mol %	t.a.	<i>p</i> -NO ₂ -Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
13	CH ₃ CN/H ₂ O	5 mol %	t.a.	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
14	CH ₃ CN/H ₂ O	5 mol %	35 °C	<i>p</i> -NO ₂ -Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
15	CH ₃ CN/H ₂ O	5 mol %	35 °C	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
16	CH ₃ CN/H ₂ O	10 mol %	60 °C	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
17	CH ₃ CN/H ₂ O	10 mol %	60 °C	<i>p</i> -NO ₂ -Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
18	CH ₃ CN	10 mol %	t.a.	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
19	CH ₃ CN	10 mol %	60 °C	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
20	CH ₃ OH	5 mol %	t.a.	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
21	CH ₃ OH	5 mol %	t.a.	<i>p</i> -NO ₂ -Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
22	CH ₃ OH	10 mol %	t.a.	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
23	CH ₃ OH	10 mol %	t.a.	<i>p</i> -NO ₂ -Ph-N ₂ BF ₄	36%
24	CH ₃ OH	10 mol %	35 °C	<i>p</i> -NO ₂ -Ph-N ₂ BF ₄	37%
25	H_2O	10 mol %	t.a.	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
26	H_2O	10 mol %	35 °C	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	MP ^a recuperado
27	H_2O	10 mol %	60 °C	<i>p</i> -OMe-Ph-N ₂ BF ₄	60% ^b

Tabela 1. Variáveis utilizadas nos testes preliminares da reação de Heck.

a) MP = material de partida, olefina <u>50</u>. b) Rendimento do produto de desidratação <u>60</u>, calculado para as duas etapas, a partir do material de partida, a olefina <u>50</u>. Considerando esses resultados realizamos algumas reações nas temperaturas de 35 e 60 °C, porém a reação de acoplamento não aconteceu, sendo recuperado a olefina de partida (Tabela 1, entradas 3, 4 e 5).

O último passo realizado na tentativa de obter produtos de acoplamento entre a 3-desidroprolina com sais de diazônio, utilizando a mistura CCl_4/H_2O , foi aumentar a quantidade do catalisador para 5 e 10 mol % e realizar as reações nas temperaturas de 35 e 60 °C, porém, ainda nesses casos a reação não aconteceu (Tabela 1, entradas 6, 7, 8 e 9), observando-se apenas o material de partida por CCD.

Tendo em vista esses resultados fizemos vários ensaios dessa reação de arilação de Heck alterando variáveis tais como o sistema de solventes, a temperatura e a quantidade do catalisador, sendo mantidos os sais de tetrafluoroborato de 4-metoxifenildiazônio e tetrafluoroborato de 4nitrofenildiazônio como agentes arilantes.

Realizamos dois testes com o sistema CH_3COCH_3/H_2O 1:1, utilizando $Pd(OAc)_2$ em quantidades de 2 mol %. Um teste foi realizado a t.a. e um outro a 60 °C. Nos dois casos utilizamos apenas o sal de tetrafluoroborato de 4-metoxifenildiazônio, porém não foi observado produto de acoplamento, apenas foi recuperado a olefina de partida (Tabela 1, entradas 10 e 11).

Diante dos resultados, resolvemos parar a utilização de CH_3COCH_3/H_2O 1:1 e investigar a reação com o sistema CH_3CN/H_2O 1:1, por ser o uso da acetonitrila mais usual em reações de arilação de Heck quando se utiliza o $Pd(OAc)_2$ como catalisador.

Com o sistema CH_3CN/H_2O 1:1 foram realizadas seis reações, variando-se a quantidade do $Pd(OAc)_2$, bem como a temperatura; contudo mesmo após 24 horas de reação, as análises por CCD e CG indicavam apenas a presença da olefina de partida (Tabela 1, entradas de 12 a 17).

Até o momento, todos os testes realizados tinham como objetivo a obtenção do lactamol como produto de acoplamento de Heck vindo da solvólise do enecarbamato obtido pela água presente no meio reacional (Esquema 25).



Esquema 25: Formação do lactamol.

Decidimos realizar novos experimentos para tentar suprimir a etapa de solvólise do enecarbamato. Realizamos portanto duas reações em acetonitrila pura, com 10 mol % de Pd(OAc)₂ a temperatura ambiente e a 60 °C, nessas condições a reação de acoplamento também não ocorreu (Tabela 1, entradas de 18 e 19).

Um importante precedente da literatura, onde sais de diazônio foram empregados com sucesso na reação de Heck, foi relatado por Sengupta⁶⁶, que utilizou 2,5-diidrofuranos como olefinas, $Pd(OAc)_2$ (1-2 mol %) como catalisador tendo como solvente o metanol a temperatura ambiente (Esquema 26).

⁶⁶ Sengupta, S.; Mehta, G. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8625.



Esquema 26: Reação de Heck de 2,5-diidrofurano com sais de arenodiazônio.

Decidimos realizar algumas reações em metanol, porém utilizando quantidades maiores do $Pd(OAc)_2$ (5 e 10 mol %) (Tabela 1, entradas de 20 a 24). Quando a reação foi realizada com 10 mol % do $Pd(OAc)_2$, mesmo a temperatura ambiente, observamos a formação do produto de acoplamento de Heck <u>57</u>, com o sal de tetrafluoroborato de 4-nitrofenildiazônio, com consumo total da pirrolina, porém em baixo rendimento de 37% após 4h (Esquema 27).



Esquema 27: Reação de Heck com o sal de tetrafluoroborato de 4-nitrofenildiazônio.

Para eliminação da metoxila do composto <u>57</u> para levar a formação do enecarbamato desejado <u>58</u>, empregamos o procedimento descrito por Shono e colaboradores⁶⁷ que utiliza o NH₄Cl em quantidades catalíticas e aquecimento a 150 °C com o sistema à pressão reduzida acoplado a um condensador de refluxo (Esquema 28). Nestas condições reacionais não

⁶⁷ Shono, T.; Matsumura, Y.; Inoue, K. J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1983, 1169.

verificamos a formação do enecarbamato <u>58</u>, mesmo após várias tentativas, recuperamos apenas o composto <u>57</u> de partida.



Esquema 28: Reação de eliminação e obtenção do composto 58.

Devido à dificuldade em eliminar o grupamento metoxila do aduto da Heck <u>57</u>, paramos temporariamente com o estudo da reação de Heck em metanol.

Resolvemos investigar apenas condições reacionais que nos levasse a obtenção do lactamol. Decidimos avaliar a reação em água sem mistura com outros solventes. Realizamos a reação com 1 equivalente da 3-desidroprolina, 1 equivalente do sal de tetrafluoroborato de 4-metoxifenildiazônio, 10 mol % do $Pd(OAc)_2$ em água a 60 °C. Análise por CCD mostrava a formação de um produto mais polar após 2 horas de reação, porém mesmo após 24 de reação não conseguimos consumo total da olefina de partida. O bruto da reação foi analisado por CG e RMN de ¹H que confirmou a formação do lactamol <u>59</u> (Esquema 29).



Esquema 29: Reação de Heck com o sal de tetrafluoroborato de 4-metoxifenildiazônio.

A fim de obter o produto de Heck com consumo total da olefina de partida, decidimos adicionar excesso do sal de diazônio em porções ao longo da reação para minimizar sua decomposição no meio reacional.

A reação foi realizada nas mesmas condições acima com excesso de 2 equivalentes do sal de tetrafluoroborato de 4-metoxifenildiazônio adicionado em porções de 0,5 equivalente a cada 1 hora de reação. Após 4 horas de reação a análise por CCD indicava o consumo total da olefina e análise do bruto da reação por CG confirmou o fim da reação.

O consumo total da olefina <u>50</u> e obtenção do lactamol <u>59</u> resultante foram verificados por CCD, CG e CG-massa e RMN ¹H. Através dessas análises, não detectamos a presença do outro isômero do aduto da Heck que viria da inserção do Pd em C-4 e da arila em C-3.

O lactamol <u>59</u> resultante da arilação de Heck foi submetido à reação de eliminação, sem prévia purificação, com anidrido trifluoroacético e 2,6 lutidina (Esquema 30), segundo uma metodologia desenvolvida no grupo de pesquisas⁶⁸. O composto 4-aril-2,3-desidroprolina <u>60</u> foi obtido em

⁶⁸ a) Oliveira, D. F. *Tese de Doutorado* – I. Q. – Unicamp **1998**. b) Oliveira, D. F.; Miranda, P. C. L.; Correia, C. R. D. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6446.

rendimento de 60%, calculado a partir da 3-desidroprolina <u>50</u>, após purificação por cromatografia *flash*.



Esquema 30: Obtenção do produto eliminado 60.

O composto <u>60</u> foi caracterizado por IV, RMN de ¹H e de ¹³C e espectrometria de massas, como também foi medido a rotação ótica específica. O espectro de RMN de ¹H apresenta um dubleto em δ 5,85 ppm com integração para um hidrogênio referente ao hidrogênio olefínico em C-3, como também os dois dubletos aromáticos em 6,85 e 7,08 ppm e os sinais das metilas na região de 3-4 ppm que confirmaram a formação do produto de Heck esperado (ver espectros 21 e 22, pag 165-166). A configuração do centro quiral em <u>60</u> foi confirmada, por analogia, através da síntese total do análogo do ácido acromélico <u>19</u> e comparação com os valores de [α]_D obtido com os dados da literatura; maiores discussões mais à frente na parte da síntese.

A 4-aril-2-desidroprolina <u>60</u> foi obtida em duas etapas (Heck e desidratação do lactamol) a partir da 3-desidroprolina, sendo executadas sem necessidade da purificação dos intermediários, demonstrando a viabilidade do método.

Cabe salientar que iniciamos nossos estudos da reação de arilação de Heck com a 3-desidroprolina pensando que poderíamos obter dois regioisômeros, um com inserção da arila em C-3 <u>61</u> e o outro com inserção em C-4 <u>62</u> (Esquema 31). Porém, tendo concluído nossos estudos preliminares da reação de Heck, não detectamos o regioisômero <u>61</u>. Uma racionalização para a forma preferencial do aduto <u>62</u> é apresentada mais à frente.



Esquema 31: Possíveis regioisômeros obtidos da reação de Heck com a 3-desidroprolina quiral <u>50</u>.

Tendo estabelecido as melhores condições para a reação de Heck e com o objetivo de aplicar os adutos dessa reação na síntese de análogos dos ácidos acromélicos, sintetizamos o sal de diazônio o-CH₃O-Ph-N₂BF₄ com o objetivo específico de obter o análogo o-metoxifenila <u>19</u>, pois este é o grupo arila do análogo mais potente dos cainatos conhecidos até o momento.

Realizamos a reação de arilação de Heck nas mesmas condições empregadas para o sal de diazônio *para* substituído, a reação foi realizada

com 2 equivalentes do sal de diazônio o-CH₃O-Ph-N₂BF₄ adicionados ao longo do período reacional empregando água a 60 $^{\circ}$ C e 10 mol % do Pd(OAc)₂ (Esquema 32).



Esquema 32: Reação de Heck em água e obtenção do lactamol 63.

A reação realizada nas condições apresentadas no Esquema 31 não se mostrou produtiva, onde muito pouco da olefina foi consumida, mesmo após 20 h de reação.

Vários testes foram realizados a fim de obter o lactamol <u>63</u> com consumo total da olefina de partida. Realizamos algumas reações tendo excesso da pirrolina⁶⁹ (1,5 equivalente); porém nessas condições a reação não aconteceu, apenas recuperamos a olefina de partida.

Em outros testes realizados alteramos a temperatura para 50, 60, 70 e 80 °C, porém, em todas as condições, muito pouco da olefina foi consumida.

De acordo com a literatura, onde as reações de Heck com sais de arenodiazônios *orto*-substituídos apresentam uma pequena queda nos rendimentos comparada às reações com o sal *para* substituído, esperávamos obter o produto de Heck em menor rendimento.

⁶⁹ a) Ozawa, F.; Hayashi, T. J. Organomet. Chem. **1992**, 428, 267. b) Nilsson, K.; Hallberg, A. J. Org. Chem. **1990**, 55, 2464. c) Loiseleur, O.; Méier, P.; Pfaltz, A. Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **1996**, 35, 200.

Em vista desse resultado, voltamos a experimentar a reação com mistura de solvente, porém com excesso de água. Empregamos H₂O e CH₃CN (2:1) (Esquema 33). Nessas condições, houve um sensível aumento no rendimento da reação, porém mesmo usando 2,5 equivalentes do sal de diazônio, adicionados ao longo da reação, não conseguimos consumo total da olefina.



Esquema 33: Reação de Heck em água e acetonitrila e obtenção do lactamol 63.

Resultados obtidos previamente no grupo de pesquisas mostraram que a presença de base no meio reacional durante a arilação da *N*-Boc-3-pirrolina promovia decréscimo acentuado dos rendimentos do produto arilado ou levava a não reação desta, sugerindo uma catálise ácida como a mais provável para a reação⁷⁰. Baseados nesses resultados, imaginamos que a adição catalítica de ácido ao meio reacional pudesse trazer incrementos no rendimento da arilação.

A literatura relata vários exemplos de reações de arilação de Heck com sais de diazônio onde foram utilizados ácidos no meio reacional, principalmente para a geração *in situ* do próprio sal de diazônio. Um exemplo é a reação de 1-ariltriazenos <u>64</u> com acrilatos de etila <u>65</u> em ácido

⁷⁰ Carpes, M. J. S. *Tese de Doutorado* – I. Q. – Unicamp **2001**.

trifluoroacético ou ácido tetrafluorobórico, com 1 % de Pd(OAc)₂ em refluxo de metanol⁷¹ (Esquema 34).



Esquema 34: Geração in situ do ânion diazônio pela decomposição de espécies de ariltriazenos.

Outro importante exemplo da literatura foi a utilização industrial da reação de Heck na preparação do herbicida Prosulfuron 71. Na metodologia utilizada o sal de diazônio 67 reagiu com a olefina 68 em ácido acético a 15 °C usando Pd₂(dba)₃ (0,5-1 mol %) como catalisador (Esquema 35). Sem isolar o produto de Heck, a ligação dupla foi hidrogenada. Segundo os autores⁷², o rendimento por etapa excedeu 90%.

 ⁷¹ Bhattacharya, S.; Majee, S.; Mukherjee, R.; Sengupta, S. *Synth. Commun.* **1995**, *25*, 651.
 ⁷² Vries, J. G. *Can. J. Chem.* **2001**, *79*, 1086.



Esquema 35: Reação de Heck em ácido acético e obtenção do herbicida 71.

Testamos portanto a reação tendo a 3-desidroprolina <u>50</u>, 2,0 equivalentes do sal de diazônio *o*-CH₃O-Ph-N₂BF₄ (adicionados em porções ao longo da reação), 10 mol% de Pd(OAc)₂, H₂O:CH₃CN:AcOH (6:3:1) levando o pH da reação a 3,0 a 60 °C. Nessas condições conseguimos consumo total da pirrolina no tempo de 3 a 4 horas de reação. Obtivemos o lactamol <u>63</u> que foi levado à reação de eliminação sem prévia purificação (Esquema 36).



Esquema 36: Reação de Heck em H₂O:CH₃CN:AcOH e obtenção do lactamol <u>63</u>.

Após a desidratação do lactamol resultante da reação de Heck com anidrido trifluoroacético e 2,6 lutidina, a 4-(2-metoxifenil)-2-desidroprolina <u>52</u> foi obtida em rendimentos na faixa de 60-65%, calculados a partir da desidroprolina quiral <u>50</u> (Esquema 37).



Esquema 37: Obtenção da 4-(2-metoxifenil)-2-desidroprolina 52.

O composto <u>52</u> foi caracterizado através das análises de IV, RMN ¹H, RMN ¹³C, espectrometria de massas. O espectro de RMN ¹H apresenta os sinais das três metilas presentes no composto na região de 3,80 a 4,0 ppm e ainda o dubleto correspondente ao hidrogênio olefínico em C-3 em 5,93 ppm. A diferença observada em comparação com seu isômero, o composto com o metoxi na posição *para* do anel aromático <u>60</u>, é visualizada na multiplicidade dos sinais na região dos hidrogênios aromáticos (ver espectro 26, pag. 170).

Até o momento, com relação às condições para reação de arilação de Heck, temos três metodologias que levaram a produtos de acoplamento; a reação em metanol, em água e em CH₃CN:H₂O:AcOH.

Nosso objetivo a partir desse momento foi descobrir uma metodologia padrão que pudesse ser aplicada na síntese de uma série de 4-aril-2desidroprolinas utilizando vários sais de arildiazônio com substituintes no anel com caráter doador ou retirador de elétrons. Tentativas de empregar a metodologia com o sistema de solventes CH₃CN:H₂O:AcOH com sais de diazônio com grupos eletro retiradores (*p*-Cl, *p*-F, *p*-NO₂) e ainda com o sal de diazônio sem substituintes no anel, falharam. Variou-se as proporções de solventes, sendo utilizado até o ácido acético puro; porém análise do bruto da reação por RMN ¹H não indicava a presença de produto de acoplamento, apenas observamos os sinais do sal de diazônio e da olefina de partida.

Outros sais de diazônio testados foram os sais de tetrafluoroborato de 2-cloro-piridinadiazônio <u>72</u>, o sal tetrafluoroborato de *o*-acetofenildiazônio <u>73</u>, o sal tetrafluoroborato de *o,m,m*-trimetóxifenil diazônio <u>74</u> (Figura 6), porém em nenhuma dessas reações conseguimos detectar produto de acoplamento. Estudamos também essa condição reacional com o sal tetrafluoroborato de 4-metoxifenildiazônio que levou a formação da 4-aril-desidroprolina já conhecida <u>60</u> em 66 % de rendimento, após desidratação do lactamol.



Figura 6: Estruturas de sais de diazônios que não reagiram com a 3-desidroprolina 50.

Devido a esses resultados, resolvemos re-investigar a reação em metanol que parece ser a melhor metodologia alternativa ao uso de água e acetonitrila. A reação foi realizada com a 3-desidroprolina <u>50</u>, 2 equivalentes do sal de diazônio, 10 mol% de $Pd(OAc)_2$ e metanol a 60 °C (Esquema 38). Os resultados alcançados estão apresentados na Tabela 2.



Esquema 38: Reações de Heck da desidroprolina 50 com sais de diazônio em metanol.

Entrada	Sal de diazônio	Tempo (h)	Conv. (%)	Rend. bruto (%) ^a , (Produto)
1	<i>p</i> -CH ₃ O-Ph-N ₂ BF ₄	18	100	86 %, <u>75</u>
2	o-CH ₃ O-Ph-N ₂ BF ₄	12	100	92 %, <u>76</u>
3	<i>p</i> -Cl-Ph-N ₂ BF ₄	4	100	97 %, <u>77</u>
4	<i>p</i> -F-Ph-N ₂ BF ₄	18	100	55 %, <u>78</u>
5	<i>p</i> -NO ₂ -Ph-N ₂ BF ₄	4	100	62 %, <u>79</u>
6	Ph-N ₂ BF ₄	24	0	-

Tabela 2. Reações de Heck da desidroprolina <u>50</u> com sais de diazônio em metanol.

a) Rendimento calculado da massa obtida após filtração em sílica gel.

O consumo total da olefina de partida foi acompanhado por análises de CCD que indicou a formação de dois composto mais polares. O bruto da reação foi filtrado em sílica gel para reter o paládio e o excesso do sal de diazônio, em seguida foi analisado por CG, espectrometria na região do IV e por RMN de ¹H. Os cromatogramas de CG mostraram a formação de dois

produtos na proporção de 1:1 e os espectros de RMN¹H confirmaram a formação de dois isômeros, provavelmente isômeros em C2.

A reação de Heck com o sal de diazônio sem substituintes no anel não levou a nenhum produto de acoplamento, apenas foi recuperado a olefina de partida.

Para eliminação do grupo metoxila e obtenção da desidroprolina, empregamos, mais uma vez a metodologia de Shono e colaboradores⁷³ que utiliza o NH₄Cl em quantidades catalíticas e aquecimento a 150 °C com o sistema à pressão reduzida e acoplado a um condensador de refluxo (Esquema 39). Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 3.



Esquema 39: Reação de eliminação da metoxila dos adutos da Heck 75 a 79.

Entrada	Mat. Partida	Conv. (%)	Rend. (produto)
1	<u>75</u>	100	70 %; <u>60</u>
3	<u>76</u>	100	95 %; <u>52</u>
4	<u>77</u>	100	90 %; <u>80</u>
5	<u>78</u>	0	-
6	<u>79</u>	0	-

Tabela 3. Reações de eliminação de metanol em NH₄Cl.

⁷³ Shono, T.; Matsumura, Y.; Inoue, K. J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1983, 1169.

Os dados espectroscópicos dos compostos <u>60</u> e <u>52</u> foram idênticos aos obtidos anteriormente, confirmando a obtenção do produto. A confirmação do composto 4-(4-clorofenil)-2-desidroprolina <u>80</u> pôde ser evidenciada pela análise de RMN de ¹H que apresentou o dubleto característico para essa classe de compostos em δ 5,81 (J = 3,0 Hz) atribuído ao hidrogênio olefínico. Dois singletos com deslocamentos em δ 3,86 e 3,74 referentes aos hidrogênios das metilas. Os hidrogênios aromáticos apresentam-se como dois dubletos em δ 7,30 e δ 7,11. O espectro de massa de alta resolução apresentou o pico do íon molecular esperado para a composição C₁₄H₁₄ClNO₄ [M⁺ (m/z) calculado 295,0611; encontrado 295,0615].

Infelizmente, as várias tentativas de eliminar o metanol dos compostos <u>78</u> e <u>79</u> com o substituinte *p*-F e p-NO₂, respectivamente, no anel aromático, falharam apenas recuperamos o material de partida. Variou-se a temperatura da reação de eliminação, porém em temperaturas superiores a 150 °C, apenas observa-se produtos da decomposição, e a temperatura inferior a 150 °C, não ocorre eliminação do metanol. Ver espectros de IV e RMN ¹H dos brutos das reações, (espectros 34-37, pag 178-181).

3.2.1 Mecanismo proposto

A reação de Heck empregando sais de diazônio segue um mecanismo catiônico⁷⁴ (Esquema 40). Portanto, acreditamos que, após a *adição oxidativa* do sal de diazônio ao catalisador, um complexo catiônico de paládio (II) seja formado.

⁷⁴ a) Kikukawa, K.; Nagira, K.; Wada, F.; Matsuda, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, *52*, 2609. b) Cabri, W.; Candiani, I. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 2. c) Sabino, A. A.; Machado, A. H. L.; Correia, C. R. D.; Eberlin, M. N. Angew. Chem. Int. Ed. **2004**, *43*, 2514.
Em seguida, esse complexo catiônico, deficiente eletronicamente, associa-se a dupla ligação da 3-desidroprolina <u>50</u>. Ocorre então, a *inserção migratória* da olefina na ligação Pd-Ar, seguida de uma β -eliminação, gerando o aduto de Heck e o hidropaládio.

Acreditamos que o hidropaládio formado reage com a água ou outro solvente nas condições empregadas (ausência de base), para regenerar a espécie de Pd(0) que volta ao ciclo catalítico. O produto primário 4-aril-2desidroprolina sofre metanólise ou hidrólise levando a formação do produto α -metoxi ou lactamol respectivamente (Esquema 40).



Esquema 40: Mecanismo da reação de Heck com a 3-desidroprolina <u>50</u> e sais de diazônio.

Foi observada uma alta regio e estereosseletividade nessa reação de arilação de Heck. A estereosseletividade pode ser explicada pelo efeito estéreo exercido pelo grupo carboximetila presente em C-2.

Já a elevada regiosseletividade na arilação da 3-desidroprolina <u>50</u> foi entendida pela possível formação das espécies 3-alquil-paládio e 4-alquilpaládio (Esquema 41). Destas, a primeira tem o paládio mais próximo do hidrogênio α em C-2. Sua maior acidez em relação a H5 deve tornar este caminho o preferido em relação a β -eliminação do H em C-5 com o Pd em C-4.

Como também o carbono-3 parece apresentar uma maior carga eletrônica por efeito indutivo exercido pelo grupo em C-2, o que favoreceria a inserção do Pd nessa posição e conseqüente formação do composto **b** (Esquema 41).



Esquema 41: Racionalização da formação preferencial regioisômero 63.

Otimização das geometrias dos estados de transição (TS) (B3LYP/LANL2DZ) realizada com os materiais de partida do aduto da Heck observado indicou uma significante estabilização do TS1 quando comparado ao regioisômero TS2 (Esquema 42)⁷⁵.

A análise das geometrias dos quatros estados de transição, não somente sustentam a regiosseletividade observada, como também sugerem uma ligação de hidrogênio entre a água, coordenada ao Pd, e o oxigênio carbonílico da função éster como sendo um importante fator de controle da regiosseletividade.

⁷⁵ Os cálculos de otimização das geometrias dos estados de transição foram realizados com a ajuda do aluno de doutorado do grupo, Ângelo Henrique Machado.



Esquema 42: Cálculo das geometrias do estados de transição na obtenção do aduto da Heck.

3.3 Estudo Preliminar da Metodologia da Heck Tradicional com a (S)-3-desidroprolina <u>50</u>.

Realizamos um estudo com o objetivo de comparar os resultados obtidos na reação de Heck com sais de diazônio com as metodologias que empregam condições clássicas de arilação de Heck utilizando haletos e triflatos de arila.

As reações de Heck tradicional geralmente são realizadas em condições experimentais que requerem o uso de uma série de aditivos, como bases e ligantes de fosfina que previnem a formação e a precipitação de aglomerados inativos de paládio durante o curso da reação.

Primeiramente utilizamos o protocolo experimental de Jeffery⁷⁶ que empregou uma série de sais de amônio quaternário como aditivos da reação a fim de estabilizar o complexo catalítico.

Em seus estudos, Jeffery utilizou os sais de *n*-Bu₄N⁺X⁻ (X = Br, Cl, HSO₄) na reação de acoplamento do iodobenzeno com acrilato de metila na presença de base e ausência de fosfina. Nesses estudos os solventes empregados foram H₂O e misturas de H₂O:CH₃CN, H₂O:DMF na proporção de 1:10. Na ausência dos sais de amônio quaternário as reações de acoplamento não ocorrem ou ocorrem em rendimentos muito baixos (~2%). Já as reações realizadas na presença dos sais de amônio quaternário, levaram ao produto de acoplamento de Heck em rendimentos que variaram de 44 a 98% (Esquema 43).

⁷⁶ Jeffery, T. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 10113.



Esquema 43: Condições de Jeffery da reação de Heck.

Estudos recentes⁷⁷ com técnicas de microscopia de transmissão eletrônica, indicam que nas condições de Jeffery (uso de sais de amônio quaternário), ocorre a formação de nanopartículas de paládio que catalisam eficientemente a reação de Heck.

No primeiro ensaio realizado por nós, seguimos as condições estabelecidas por Jeffery, o que levou ao produto de acoplamento de Heck em um rendimento de 27%. Foram empregadas as seguintes condições de reação: excesso da olefina (2 eq) com relação ao iodeto de arila (1 eq), o sal de hidrogênio sulfato de *n*-tetrabutilamônio (1 eq), um excesso da base K_2CO_3 (2,5 eq), o Pd(OAc)₂ (5 mol %) e como solvente CH₃CN:H₂O (10:1) a 50 °C (Esquema 44).





⁷⁷ Moreno-Manãs, M.; Pleixats, R. Acc. Chem. Res. 2003, 36, 638.

A reação foi acompanhada por CCD e a presença de um produto mais apolar só foi observado após 24 horas de reação. Isolamos o produto 4-fenil-2-desidroprolina <u>81</u> por cromatografia *flash* em 27 % de rendimento, sendo recuperados 30% da olefina de partida.

O composto <u>81</u> teve sua estrutura elucidada e confirmada por IV, RMN de ¹H, RMN de ¹³C e espectrometria de massas de alta resolução. O espectro de RMN de ¹H apresentou o dubleto em δ 5, 87 (J = 3,0 Hz) atribuído ao hidrogênio olefínico. Dois singletos com deslocamentos em δ 3,86 e 3,73 referentes aos hidrogênios das metilas. Os hidrogênios aromáticos apresentam-se como um multipleto na região de δ 7,36-7,17 (ver espectro 39, pag. 183). O espectro de massa de alta resolução apresentou o pico do íon molecular esperado para a composição C₁₄H₁₅NO₄ [M⁺ (m/z) calculado 261,1001; encontrado 261,1029].

Foram realizados vários ensaios com o intuito de obter o composto <u>81</u> em melhores rendimentos. Variamos o sal de amônio quaternário (n-Bu₄NHSO₄ e n-Bu₄NOAc), a quantidade do Pd(OAc)₂, a quantidade da 3desidroprolina e a temperatura da reação (Tabela 4). Em todos os ensaios houve formação do produto da Heck, porém os rendimentos ficaram na faixa de 28-35%.

Entrada	Quantidade de <u>50</u> (eq.)	Pd(OAc) ₂ (mol %)	Temperatura (° C)	Rendimento (%)
1	2	5	50	35
2	2	10	50	30
3	2	10	100	28
4	4	5	50	28
5	1	5	50	30

Tabela 4: Estudo das melhores condições da reação de Jeffery com a olefina 50.

Outro protocolo da reação de Heck tradicional que nos pareceu bastante interessante avaliar foram os descritos por Crisp^{78} . Em seu estudo, Crisp utilizou olefinas não ativadas como vinil glicinol <u>82</u> no acoplamento com triflatos vinílicos e empregou uma condição experimental muito semelhante a utilizada por Jeffery – o uso de sais de amônio quaternário (Esquema 45).



Esquema 45: Condições de Crisp da reação de Heck.

Crisp observou que, para olefinas não ativadas, como <u>82</u>, os melhores resultados foram alcançados com o uso de sal de triflato de tetrabutilamônio ao invés do cloreto do mesmo sal. A maior facilidade de dissociação do íon triflato do intermediário de Pd(II) neutro, em comparação ao íon cloreto, leva a formação de espécies reativas de paládio catiônico de forma mais rápida.

Em nosso estudo da reação de Heck com a 3-desidroprolina 50empregando as condições de Crisp, utilizamos o sal de acetato de tetrabutilamônio (*n*-Bu₄NOAc) por não dispormos do sal de triflato; acreditamos que também o íon acetato forme espécies de paládio lábeis que facilitem sua dissociação. Porém, tentativas de obter produto de acoplamento de Heck com a olefina <u>50</u> empregando essas condições não conduziram aos

⁷⁸ Crisp, G. T. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 12465.

produtos de acoplamento desejados, apenas recuperamos o material de partida (Esquema 46).



Esquema 46: Reação de Heck da 3-desidroprolina 50 nas condições de Crisp.

Recentemente Fu e colaboradores⁷⁹ realizaram um estudo da reação de Heck empregando sais de fosfônio $[(n-Bu)_3PH]BF_4$ e $[(t-Bu)_3PH]BF_4$ como precursores do ligante de fosfina. Os sais de fosfônio foram também empregados em algumas reações catalíticas de acoplamentos catalisados por paládio (Suzuki, Heck, Stille e Sonogashira), acilações de álcoois e reações de Ballis-Hillman⁷⁹. A vantagem dos sais de fosfônio $[(n-Bu)_3PH]BF_4$ e $[(t-Bu)_3PH]BF_4$ é que eles são estáveis ao oxigênio e a umidade, e podem ser estocados por um longo período de tempo sem deterioração.

Para a reação de Heck, os pesquisadores⁷⁹ utilizaram como protocolo o sal $[(t-Bu)_3PH]BF_4$ (1-6 mol %) com Pd₂(dba)₃ (0,5-1,5 mol %), haletos de arila, uma amina impedida como base e como olefina acrilatos e vinilbenzeno. Com essa metodologia os pesquisadores obtiveram os produtos de Heck em rendimentos acima de 90%.

Aplicamos essa metodologia na reação de Heck com nossa olefina de interesse, a 3-desidroprolina quiral <u>50</u>. Uma vantagem desse método é que ele permite o uso de haletos de arila com substituintes doadores de elétrons no anel aromático, como por exemplo o *p*-bromo anisidina <u>84</u>, que levaria ao

⁷⁹ Littke, A. F.; Fu, G. C. J. Am. Chem. Soc. **2001**, 123, 6989.

produto de acoplamento <u>60</u> já obtido pela reação de Heck com sais de diazônio e permitiria a comparação direta entre as duas metodologias.

A reação foi realizada em um tubo de Schlenk observando-se todos os cuidados necessários a uma reação empregando-se fosfinas; ou seja, meio livre de oxigênio, solventes e reagentes anidros. Porém mesmo após 48h de reação, não foi observada formação do produto de Heck, apenas foi recuperado 35% da olefina de partida (Esquema 47).



Esquema 47: Reação de Heck da 3-desidroprolina 50 nas condições de Fu.

A pequena proporção na recuperação da olefina de partida foi entendida pela incompatibilidade entre a olefina <u>50</u> e a amina Cy_2NCH_3 . Durante a reação, logo após ser adicionada a base, houve mudança brusca na coloração da reação de incolor para vermelho púrpura. Uma análise por CCD mostrou presença de produtos de decomposição.

Em vista desse resultado, juntamos a olefina <u>50</u> dissolvida em dioxano com a base Cy_2NCH_3 nas mesmas proporções da reação acima. Mantivemos essa reação em paralelo com a reação de Heck. Após 5 minutos a mistura reacional mudou de incolor para vermelho púrpura. A análise por CCD mostrou a formação de produtos com os mesmos Rf da reação anterior. Após 48h de reação a proporção dos produtos de decomposição era maior que a da olefina <u>50</u> (CCD e CG).

3.4 Síntese dos Análogos Neuroexcitatórios do Ácido Acromélico.

Os excelentes resultados obtidos com a reação de Heck com sais de diazônio mostram o grande potencial sintético dessa reação.

As 4-aril-2-desidroprolinas foram obtidas como potenciais precursores na síntese de análogos dos ácidos acromélicos. Em particular visamos a síntese do produto <u>52</u>, que é o intermediário chave na síntese do composto <u>19</u> (Esquema 48); sendo esse o análogo mais potente dos ácidos acromélicos A <u>2</u> e B <u>3</u> (Figura 2-Pag 6).



Esquema 48: A 2-desidroprolina <u>52</u> como intermediário chave na síntese do composto <u>19</u>.

Primeiramente, de posse do intermediário chave, o composto <u>52</u>, seguimos o protocolo de Rubio⁸⁰ na formação do novo centro assimétrico em C-3 através da reação de adição de Michael com um carbânion estabilizado gerado do malonato de dietila com NaH em THF por 18h. O aduto da Michael, Ester metílico da (4S,3R,2R)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-

⁸⁰ (a) Ezquerra, J.; Escribano, A.; Rubio, A.; Remuiñán, M. J.; Vaquero, J. J. *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, *9*, 2613. (b) Ezquerra, J.; Escribano, A.; Rubio, A.; Remuiñán, M. J.; Vaquero, J. J. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *34*, 6149.

metoxifenil)-3-dietiloxicarbonilprolina <u>85</u> foi obtido em 79% de rendimento (Esquema 49).



Esquema 49: Obtenção do aduto da Michael 85.

A escolha do uso do malonato de dietila como carbânio estabilizado na geração do novo centro estereogênico em C-3 teve como base o estudo realizado por Rubio e colaboradores⁸⁰, em sua síntese de prolinas 3,4dissubstituídas como <u>88</u>. O estudo de Rubio teve como objetivo explorar a reatividade do aceptor da Michael <u>86</u>⁸¹ com diferentes nucleófilos. Foram observados os efeitos da base, do solvente, do tempo de reação e da temperatura (Tabela 6). Assim, de acordo com os dados da tabela, podemos observar que <u>86</u> reage com carbânios estabilizados oriundos de malonato de dietila ou acetoacetato de etila (Tabela 6, entradas 1 e 2) em rendimentos de bons a moderados, usando NaH como base em THF. Para outros carbânios estabilizados, como fenilsulfonilacetato de metila ou feniltioacetato de metila (Tabela 6, entradas 3 e 4), foi necessário mudar a base e o aduto da Michael foi obtido em rendimentos moderados.

⁸¹ O composto <u>**86**</u> foi sintetizado a partir do *N*-Boc piroglutamato de etila em 8 etapas com rendimento global de 26%.

C_6H_5 N CO_2Et CO_2CH_3	Nu/base	C_6H_5 N_1 N_2 N_1 N	_	$\begin{array}{c} C_{6}H_{5} \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\ \\$
86		87		88

Tabela 6: Estudo das condições reacionais na síntese de prolinas 3,4-dissubstituídas.

Entrada	Nu	Base	Solvente	Temp(°C)	Rend.
			Solvente	Tempo(h)	<u>87</u> (%)
1	$(EtO_2C)_2CH_2$	NaH	THF	0 a t.a./7	70
2	CH ₃ COCH ₂ CO ₂ Et	NaH	THF	40/6	50
3	PhSO ₂ CH ₂ CO ₂ Me	Cs_2CO_3	THF	20/96	55
4	PhCH ₂ CO ₂ Me	KHMDS	Tolueno	-40 a 0/1,5	40
5	Me ₂ CuLi		THF/Et ₂ O	-40/0,25	88
6	Ph ₂ CuLi		THF/Et ₂ O	-40/0,25	52

No espectro de RMN de ¹H do composto <u>85</u>, a presença de rotâmeros, bem como a geração de um centro estereogênico adicional, complicou a sua análise. Os hidrogênios das metilas do grupo malonato foram visualizados como um multipleto, devido a presença de rotâmeros, na região de δ 1,28-1,12 com integração para 6 hidrogênios. O sinal dos hidrogênios dos metilenos do malonato foram visualizados como multipleto em δ 4,13-3,90. O hidrogênio do metino do malonato apareceu na região de δ 3,38-3,27 e o hidrogênio do carbono 2 do anel pirrolidinico apareceu como um dubleto duplicado, em δ 4,52 e 4,50 (J = 4,2 Hz) (ver espectro 43, pag.187). O espectro de RMN de ¹³C apresentou os sinais das metilas do malonato em δ 13,8 e δ 13,9 e dos metilenos em δ 46,9 e δ 48,2 (ver espectro 44, pag.188). No espectro na região do IV observamos as bandas das carbonilas em 1748

74

cm⁻¹; 1730 cm⁻¹ e 1706 cm⁻¹, também confirmando a formação do novo centro em C-3 e do composto <u>85</u> esperado. O espectro de massa de alta resolução apresentou o pico do íon molecular esperado para a composição $C_{22}H_{29}NO_9$ [M⁺ (m/z) calculado 451,1842; encontrado 451,1882]. O valor da rotação ótica medido foi de +3.2 (c 0,8, CH₃CN).

A estereoquímica do composto <u>85</u> só foi estabelecida no produto de hidrólise do aduto da Michael que levou à obtenção do correspondente análogo do α -alocaínico, onde esse apresenta todos os centros com relação estereoquímica *trans* <u>89</u>. O aduto da Michael <u>85</u> foi tratado com HCl 6M a 110 °C por 3 dias levando a três reações sequenciais de hidrólise dos ésteres, descarboxilação e remoção da carbometoxila do grupamento amino (Esquema 50). A (4*S*,3*R*,2*R*)-4-(2-metoxifenil)-3-ácido etanóico prolina <u>89</u> foi obtida como um simples diastereoisômero em 61 % de rendimento.



Esquema 50: Obtenção do análogo α -alocaínico <u>89</u>.

A configuração relativa dos dois novos estereocentros do composto <u>89</u> foi atribuída através das análises da constante de acoplamento e deslocamento químico para o hidrogênio em C-2 em solução de D₂O, tendo como referência o excelente trabalho publicado por Shiharama⁸².

⁸² Konno, K.; Hashimoto, K.; Ohfune, Y.; Shirahama, H.; Matsumoto, T. J. Am. Chem. Soc. 1988, 110, 4807.

De acordo com o trabalho publicado por Shiharama, independentemente do substituinte em C-4, o hidrogênio em C-2 aparece abaixo de 4,2 ppm quando os substituintes em C-2 e C-3 são *trans*, enquanto que para substituintes *cis* posicionados, o hidrogênio em C-2 aparece acima de 4,2 ppm.

Esse fenômeno foi observado em mais de 50 cainóides, onde os deslocamentos químicos foram medidos em solução de D_2O na faixa de pD apropriada 3-8. É importante observar a faixa de pD para medida do deslocamento químico tendo em vista que o deslocamento químico de cada próton varia em função do pD devido ao estado de ionização dos grupos amino e carboxílico. Esse fenômeno pode ser racionalizado pelo efeito anisotrópico do sistema π -eletrônico do grupo carboxílico em C-2.

O aminoácido **89**, obtido como um sólido pardo (ponto de fusão = 210-210,5 °C) teve sua estrutura confirmada por análise de RMN ¹H, RMN ¹³C, IV e por espectrometria de massas de alta resolução. O espectro de RMN ¹H mostrou o sinal do hidrogênio em C-2 em δ 4,08 ppm (J = 7,8 Hz) (indicando relação estereoquímica *trans* entre C-2 e C-3). Dois duplo dubletos na região de 2,71 (J = 3,6Hz, J =15,0 Hz) e outro em 2,52 (J = 8,1Hz, J = 15,3 Hz) referentes aos hidrogênios do metileno do grupo carboximetil (ver espectro 48, pag.192). Através do espectro na região de IV podemos verificar a presença de uma absorção larga referente ao estiramento O-H do ácido carboxílico e NH₃⁺ (3200 a 2700 cm⁻¹). O espectro de massa de alta resolução apresentou o pico do íon molecular esperado para a composição C₁₄H₁₇NO₅ [M⁺ (m/z) calculado 279,1107; encontrada 279,1144. O valor da rotação ótica medido foi de -19 (c 0,2, H₂O).

Nosso segundo alvo sintético foi à obtenção do análogo dos ácidos acromélicos com configuração total *cis*; de acordo com dados da literatura; análogos dos cainatos com configuração total *cis* mostraram importante atividade antiepiléptica e anticonvulsivante⁸³. Novamente adotamos a estratégia similar à reportada por Rubio⁸⁴ em sua síntese do ácido caínico.

Partindo do malonato <u>85</u>, para obtenção do composto "todo *cis*" foi necessário epimerizar o centro estereogênico em C-3 do sistema prolinato.

Para epimerização em C-3, primeiramente foi realizada a desprotonação seletiva do metino do malonato com a base LiHMDS, gerada *in situ* a partir de *n*-BuLi e HMDS, em THF a 0 $^{\circ}$ C. Em seguida foi adicionada uma solução de PhSeBr em THF a 0 $^{\circ}$ C, permanecendo a reação a temperatura ambiente por 12 horas. Isolamento e purificação do produto levou a obtenção do Ester metílico da (4S,2R,3R)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-3-dietiloxicarbonil fenilselanilprolina <u>**90**</u> em 72% de rendimento (Esquema 51).



Esquema 51: obtenção do selenilato 90.

⁸³ Collins, J.F.; Dixon, A.J.; Badman, G.; de Sarro, G.; Chapman, A.G.; Hart, G.P.; Meldrum, B.S. *Neurosci. Lett.* **1984**, *51*, 371.

⁸⁴ Ezquerra, J.; Escribano, A.; Rubio, A.; Remuiñán, M. J.; Vaquero, J. J. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2171.

O composto <u>90</u> teve sua estrutura confirmada por análise de RMN ¹H, RMN ¹³C, IV e por espectrometria de massas de alta resolução. No espectro de RMN ¹H a região de δ 7,60-6,81 apresentou os sinais dos hidrogênios aromáticos com integração para nove hidrogênios correspondentes aos dois aneis aromáticos presentes na molécula e confirmando a introdução do grupo fenilselenenila (Ver espectro 52, pag 196). O espectro de massa de alta resolução apresentou o pico do íon molecular esperado para a composição C₂₈H₃₃NO₉Se [M⁺ (m/z) calculado 607,1322; encontrada 607,1329]. O valor da rotação ótica medido foi de +9 (c 1,0, CH₃Cl).

A próxima etapa consistiu no tratamento do composto <u>90</u> com H₂O₂ em THF a 0 0 C por 30 minutos, a temperatura ambiente por 12 h, promovendo a oxidação seguida por eliminação *syn* do selenóxido que após purificação por coluna cromatográfica, forneceu o composto Ester metílico da (4*S*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-3-dietiloxicarbonil-metileno-4-(2metoxifenilprolina <u>91</u> em 72 % de rendimento (Esquema 52).



Esquema 52: Obtenção da olefina tetrassubstituída 91.

O composto <u>91</u> teve sua estrutura confirmada pelas análises de RMN ¹H, RMN ¹³C, IV e por espectrometria de massas de alta resolução. Verificamos que o espectro de RMN ¹H foi bastante simplificado e as multiplicidades dos sinais ficaram bem mais evidentes. Os sinais mais protegidos da molécula, dos hidrogênios das metilas do grupo malonato, apareceram como dois tripletos na região de δ 0,96 e 1,29 com integração para três hidrogênios cada sinal. O sinal do hidrogênio do carbono-2, que antes apresentava um dubleto como multiplicidade, aparece agora como um singleto na região de campo mais baixo, 5,92 ppm (Ver espectro 56, pag 200). No espectro de RMN ¹³C observamos que na região acima de 100 ppm foi apresentado todos os 11 sinais esperados da molécula, 7 carbonos tetrassubstituídos (124,8; 126,7; 154,3; 156,8; 163,4; 163,8; 168,7) e mais 4 CH aromáticos (110,1 ; 120,5; 128,4; 129,0). Também verificamos os oito sinais na região abaixo de 70 ppm (13,5; 14,1; 43,3; 51,8; 52,6; 53,0; 55,4; 61,0; 61,6; 63,7;) referentes aos carbonos mais protegidos da moléula (Ver espectro 58, pag 202). O espectro de massa de alta resolução apresentou o pico do íon molecular esperado para a composição C₂₂H₂₇NO₉ [M⁺ (m/z) calculado 449,1685; encontrado 449, 1679]. O valor da rotação ótica medido foi de -6,5 (c 1,2; CHCl₃).

Tendo a olefina tetrassubstituída <u>91</u> em mãos, realizamos a reação de hidrogenação catalítica para obtenção do composto com todos os centros assimétricos *cis*. Seguindo o procedimento descrito por Rubio e colaboradores, onde se utiliza 10 mol% de PtO₂ como catalisador, etanol como solvente e hidrogênio a pressão ambiente, não observamos formação do produto esperado mesmo após 8h de reação. Resolvemos realizar a reação utilizando 20 mol % do catalisador e a uma pressão de H₂ de 50 *psi*. Análise por cromatografia em camada delgada, após 8h de reação, mostrou que um pouco do produto havia sido formado. Aumentamos a pressão de H₂ para 80 *psi*, e dessa forma obtivemos o produto esperado, com consumo total da olefina de partida após 30h de reação. Obtivemos o composto <u>92</u>, após

filtração em Celite para separar o catalisador de platina e purificação em sílica *flash*, em 95 % de rendimento (Esquema 53).



Esquema 53: Obtenção do composto hidrogenado 92.

O composto <u>92</u> teve sua estrutura confirmada pelas análises de RMN ¹H, RMN ¹³C, IV e por espectrometria de massas de alta resolução. Comparando os espectros de RMN ¹H do composto <u>92</u> (Ver espectro 61, pag 205) com o do composto <u>85</u>, epímero em C-3, verificamos que são bastante similares, com muito dos sinais duplicados devido a presença de rotâmeros. O sinal dos hidrogênios dos carbono-2 e carbono-3 apareceram em região de campo mais baixo δ 4,85 e 3,80 respectivamente (Tabela 7). No espectro de RMN ¹³C observamos que os sinais dos carbonos C-2, C-3 e C-4 apareceram numa região mais protegida quando comparados aos mesmos carbonos no composto <u>85</u> (Tabela 7) (Ver espectro 62, pag 206). O espectro de massa de alta resolução apresentou o pico do íon molecular esperado para a composição C₂₂H₂₇NO₉ [M⁺ (m/z) calculado 451,1842; encontrado 451,1765]. O valor da rotação ótica medido foi de -17 (c 1,0; CHCl₃). **Tabela 7**: Comparação dos deslocamentos químicos nos espectros de RMN de 1 H e de 13 C entre os compostos <u>85</u> e <u>92</u>.



Análise de RMN de ¹ H e de	Composto <u>85</u>	Composto <u>92</u>
¹³ C	$(\delta em ppm)^a$	$(\delta em ppm)^a$
H2	4,50 e 4,52 (<i>J</i> = 4,2 Hz)	4,82 e 4,88 (<i>J</i> = 8,1 Hz)
Н3	3,63-3,50	4,00-3,80
C-2	62,1 e 61,6	59,9 e 59,1
C-3	41,9 e 41,0	37,9 e 36,8
C-4	48,2 e 46,9	44,3 e 43,2

a) Sinais duplicados devido a presença de rotâmeros.

Seguindo o mesmo procedimento para obtenção do composto <u>89</u>, submetemos o composto <u>92</u> a hidrólise dos ésteres, descarboxilação e desproteção do grupamento amino simultaneamente com HCl 6M a refluxo por 3 dias (Esquema 54). Infelizmente, diferente do composto <u>89</u>, a (4S,3S,2R)-4-(2-metoxifenil)-3-ácido etanóico prolina <u>93</u> foi obtida, após purificação por coluna de troca iônica de Dowex, em apenas 28 % de rendimento.



Esquema 54: Obtenção do análogo de configuração "todo cis" 93.

Como o composto <u>93</u> foi obtido em muito baixo rendimento, decidimos seguir um protocolo de duas etapas, que se mostrasse mais suave, levando a obtenção do composto <u>93</u> em maiores rendimentos.

Primeiramente realizamos uma hidrólise dos ésteres do material de partida <u>92</u> em meio básico de LiOH 2M a 80 °C por 4h, seguido de refluxo do composto obtido em água por 3h para completar a descarboxilação. Pensávamos que o curto tempo de exposição em meio básico pudesse evitar a epimerização do centro em C-2. Resultados posteriores mostraram que nessas condições de reação ocorreu epimerização do centro em C-2, o diácido <u>94</u> foi obtido juntamente com seu epímero numa porporção de 1:1 (ver resultados mais à frente). Obtivemos os diácidos (<u>94</u> + <u>95</u>) em um rendimento de 80% (Esquema 55).



Esquema 55: Reação de hidrólise dos esteres e descarboxilação do composto 92.

A estrutura do composto <u>94</u> foi confirmada por análise de RMN de ¹H do bruto da reação, porém a duplicidade dos sinais, devido à presença de rotâmeros e do epímero em C-2, complicou a análise. Observamos os sinais de duas metilas, um duplo dubleto como o sinal mais protegido da molécula referente ao sinal dos hidrogênios do metileno da cadeia lateral, confirmando a descarboxilação e desproteção dos ésteres (Ver espectro 70, pag 214).

A próxima etapa consistia em promover a clivagem da carbometoxila por métodos mais suaves e rápidos. Consulta da literatura mostrou que o método que utiliza iodeto de trimetilsilila⁸⁵ gerado *in situ*, é o mais promissor. Tentativas de gerar o TMSI, em pequena escala, falharam e a reação não aconteceu. A reação feita com o TMSI comercial, também não levou ao produto de clivagem, sendo recuperado o material de partida (Esquema 56). Estes resultados, aliado as informações de que TMSI promove a clivagem de éter aromáticos, o que seria indesejável neste caso, nos levaram a abandonar essa metodologia.



Esquema 56: Tentativas de clivagem do carbometoxi.

⁸⁵ Rawal, V. H.; Michoud, C. J. Org. Chem, 1993, 58, 5583.

Outro método testado utiliza a hidrazina em meio básico de KOH, tendo o etileno glicol como solvente a refluxo de 180 °C por 2 horas⁸⁶ (Esquema 57). Análise de RMN de ¹H mostrou que houve decomposição do produto, talvez devido à alta temperatura empregada para levar o etileno glicol a refluxo.



Esquema 57: Tentativas de clivagem do carbometoxi.

Testamos a clivagem com MeLi⁸⁷ em THF a 0 °C (Esquema 58). Mesmo sabendo que por ser uma base forte, o MeLi pudesse promover reações indesejáveis, esperávamos que à baixa temperatura a reação fosse mais limpa. Infelizmente dados espectrais mostraram a decomposição do produto.



Esquema 58: Tentativas de clivagem da carbometoxila.

 ⁸⁶ Rawal, V. H.; Michoud, C. J. Org. Chem. 1984, 49, 300.
⁸⁷ Ungureanu, I.; Mann, A.; Wermuth, C. G. J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 5959.

Devido aos insucessos na tentativa de clivagem da carbometoxila com outras metodologias para obtenção do análogo β -cainato (composto "todo *cis*"), voltamos a metodologia em meio ácido de HCl 6M com mais controle da temperatura e do tempo de reação.

Novamente o triester todo *cis* **92** foi submetido a reação com HCl 6M, porém por apenas 8h a 80 °C. A reação foi realizada de forma mais suave com a finalidade de apenas hidrolisar os ésteres e assim, com a presença dos ácidos, tentar evitar epimerização. Análise de RMN de ¹H do bruto da reação mostrou a formação do diácido esperado. Confirmada a formação do diácido **94** aumentamos a temperatura da reação em HCl 6M para refluxo visando a clivagem da carbometoxila. A clivagem total do carbometoxi e formação do aminoácido livre foi obtida após 40h de reação (reação acompanhada por análise de CCD). Nessas condições mais suaves, o composto **93** foi obtido como um sólido pardo (ponto de fusão = >300 °C) em 75% de rendimento após a purificação do cloridrato em Dowex. No espectro de RMN de ¹H, novamente observamos a presença do epímero em C-2, porém numa proporção bem menor de 20:1 (ver espectro 66, pag. 210) (Esquema 59).



Esquema 59: Obtenção do análogo de configuração "todo cis" 93.

O composto 93 teve sua estrutura confirmada pelas análises de RMN ¹H, RMN ¹³C, IV e por espectrometria de massas de alta resolução. O espectro de RMN ¹H do composto 93 foi comparado com o espectro de RMN¹H do composto **89**, seu epímero em C-3. Observamos grandes diferenças nos deslocamentos químico de todos os sinais dos hidrogênios pertencentes ao anel pirrolidínico, no caso do espectro do composto 93 esses sinais foram mais desprotegidos (Tabela 8) (Ver espectro 66, pág 210). É importante observar o deslocamento químico, principalmente do hidrogênio em C-2, δ 4,73 (d, J = 7,5Hz), estando este de acordo com o verificado no estudo realizado por Shirahama⁸², pois sendo a relação entre os centros estereogênicos em C-2 e C-3 cis o dubleto apareceu na região acima de 4,20 ppm. O espectro na região do IV novamente mostrou uma absorção larga entre 3500-2600 cm⁻¹, resultante da superposição das absorções de deformação axial de O-H e N-H e ainda uma absorção de carbonila na região de 1724 cm⁻¹. O espectro de massa de alta resolução apresentou o pico do ion molecular esperado para a composição $C_{14}H_{17}NO_5$ [M⁺ (m/z) calculado 279,1107; encontrada 279,1577]. O valor da rotação ótica medido foi de -4,5 $(c 0,7; H_2O).$

Tabela 8: Comparação dos deslocamentos químicos nos espectros de RMN de ¹H entreos compostos <u>89</u> e <u>93</u>.



Análico do DMN do ¹ 11	Composto <u>89</u>	Composto <u>93</u>
Analise de Kivin de H	$(\delta em ppm)$	$(\delta em ppm)$
H2	4,08 (d, J = 7,8Hz)	4,73 (d, <i>J</i> = 7,5Hz)
H3	3,04-2,90	3,68-3,64
H4	3,70-3,59 ^a	4,15-4,06
115 -	$2,70,2,50^{a}$	3,90 (dd, sinal
пра	5,70-5,59	sobreposto)
1171		3,71 (dd, <i>J</i> = 7,8Hz,
пэр	5,70-3,59	<i>J</i> = 11,7Hz)

a) Os sinais dos hidrogênios H4, H5a e H5b estão sobrepostos na região de δ 3,71-3,59.

Com o intuito de obter o composto na configuração do produto natural, com a relação C-2/C-3 *trans* e C-3/C-4 *cis* (epímero em C-2 do composto <u>93</u>); foi necessário a epimerização do centro em C-2.

Para realizarmos a reação de epimerização do centro em C-2 fez-se necessário obter o composto "todo *cis*" com os grupos amino e ácido carboxílico protegidos. Partimos do diácido obtido da hidrólise em LiOH, que apresenta a amina protegida com carbometoxila, composto <u>94</u> + <u>95</u>.

Realizamos a esterificação dos diácidos com diazometano levando a formação dos compostos esperados (96 + 97) (Esquema 60).



Esquema 60: Obtenção dos diesteres 96 e 97.

Os produtos obtidos da esterificação com diazometano, compostos (96 + 97), após purificação por cromatografia em coluna mostrou dois sinais, na proporção de 1:1 em análise por CG (Figura 7). Na análise por CCD verificamos apenas uma única mancha que não conseguimos separar mesmo após o uso de vários sistema de solventes. Esse dado nos levou a supor que parte do composto já tivesse epimerizado na reação anterior de hidrólise básica em LiOH. O espectro de RMN de ¹H comprovou nossas suspeitas e mostrou a presença dos dois compostos na proporção de 1:1. Esses dados foram confirmados através dos deslocamentos químicos e constantes de acoplamentos dos hidrogênios em C-2 de acordo com os resultados de Shirahama⁸².



Figura 7: Cromatograma da mistura de epímeros (96 + 97). (A integração das áreas mostrou proporção de (1,05:1). O sinal em 15.99 é de uma impureza desconhecida. As seguintes condições de análise foram utilizadas: temperatura inicial do forno, 100 °C 1 minuto; taxa da elevação da temperatura, 10 °C por minuto até 150 °C seguido por 20 °C por minuto até 250 °C permanecendo nessa temperatura por mais 10 minutos; utilizando detector de FID.)

A mistura dos epímeros inseparáveis foi analisada por RMN ¹H, RMN ¹³C, IV e por espectrometria de massas de baixa resolução. Na análise do espectro de RMN ¹H verificamos um sinal na forma de um dubleto dublicado (presença de rotâmeros) em δ 4,61 (J = 7,2Hz) referente ao sinal do hidrogênio em C-2 do composto que apresenta estereoquímica "toda *cis*". Verificamos também outro dubleto duplicado em 4,14 (J = 5,4Hz) referente ao sinal do hidrogênio em C-2 do composto que apresenta estereoquímica C-2/C-3 *trans* e C-3/C-4 *cis*. Esses dois sinais estavam na proporção de 1:1 (ver espectro 72, pag. 216). Verificamos os sinais dos hidrogênios aromáticos em δ 7,30-6,80; os sinais das metilas e dos hidrogênios do anel pirrolínico apareceram na região entre δ 4,10-3,18. Os sinais mais protegidos da molécula, do metileno da cadeia lateral, apareceram na região entre δ 2,29-2,00. O espectro de RMN ¹³C ficou bastante complicado com muitos sinais (ver espectro 73, pag. 217). O espectro na região do IV mostrou duas absorções de carbonila na região de 1736 e 1703 cm ⁻¹. O espectro de massa de baixa resolução apresentou o pico do íon molecular esperado para a composição C₁₈H₂₃NO₇ [M⁺ (m/z) = 365].

A mistura de epímeros ($\underline{96} + \underline{97}$) foi submetida à reação de epimerização com KHMDS seguindo procedimento descrito na literatura por Klotz e Mann⁸⁸ para epimerização do hidrogênio em C-2 dos derivados arilados dos cainatos. A reação foi realizada com KHMDS 0,6M recém preparado em THF e a temperatura ambiente por 16h. Em uma segunda etapa o bruto da reação foi tratado com diazometano, devido a reação de saponificação dos ésteres durante a epimerização. Após purificação do bruto por cromatografia em coluna, análise por CCD revelou apenas uma única mancha com o mesmo Rf da mistura. O composto <u>97</u> foi obtido em 60% de rendimento (Esquema 61).



Esquema 61: Reação de epimerização do centro em C-2 dos compostos <u>96</u> + <u>97</u>.

⁸⁸ Klotz, P.; Mann, A. Tetrahedron Lett. 2003, 44, 1927.

Análise do composto <u>97</u> por CG mostrou o desaparecimento de um dos sinais e permanência do outro (Figura 8) indicando que a reação de epimerização procedeu com conversão total.



Figura 8: Cromatograma do composto <u>97</u> puro após reação de epimerização. (O sinal próximo de 16 min. refere-se a uma impureza desconhecida. As seguintes condições de análise foram utilizadas: temperatura inicial do forno, 100 °C 1 minuto; taxa da elevação da temperatura, 10 °C por minuto até 150 °C seguido por 20 °C por minuto até 250 °C permanecendo nessa temperatura por mais 10 minutos; utilizando detector de FID.)

A estrutura do composto <u>97</u> foi caracterizada através das análises de RMN ¹H, RMN ¹³C, IV e por espectrometria de massas de alta resolução. Através da análise de RMN ¹H constatamos a simplificação do espectro quando comparado com o espectro da mistura de epímeros (<u>96</u> + <u>97</u>). Houve desaparecimento do sinal em 4,60 ppm e a região de δ 4,10-3,60 mostrou claramente os sinais dos hidrogênios em C-4 e C-5, como também das 4 metilas presentes na molécula. Todas as integrações confirmaram a obtenção do composto <u>97</u> em total pureza diastereoisomérica (Ver espectro 76, pág

220). A permanência do sinal, como um dubleto duplicado, em δ 4,14 (J = 5.4Hz) confirmou a estereoquímica atribuída, ou seja a relação entre C-2 e C-3 *trans*. No espectro de RMN de ¹³C podemos observar todos os sinais esperados para a molécula do composto 97. Na região abaixo de 70 ppm encontramos os nove sinais referentes aos carbonos mais blindados eletronicamente, com os sinais dos metinos duplicados devido a presença de rotâmeros. Na região acima de 100 ppm encontramos quatro sinais grandes referentes aos carbonos aromáticos e ainda outros cinco sinais menores (duplicados) referentes aos carbonos tetrasubstituídos. Os sinais das carbonilas dos ésteres quase se sobrepuseram, um sinal apareceu em δ 172,5 e 172,4, referente a carbonila do éster da cadeia lateral e o outro sinal em δ 172,2 e 172,0 referente a carbonila do éster em C-2. O espectro na região do IV mostrou a presença dos estiramentos característicos das carbonilas do carbamato (1703 cm⁻¹) e dos ésteres (1736 cm⁻¹). O espectro de massa de alta resolução apresentou o pico do íon molecular esperado para a composição $C_{18}H_{23}NO_7$ [M⁺ (m/z) calculado 365,1475; encontrada 365,1472.]. O valor da rotação ótica medido foi de -40 (c 2,1; CHCl₃).

Para obtenção do aminoácido esperado, o composto <u>19</u> com a mesma estereoquímica do produto natural de maior atividade neuroexcitatória, faltaria apenas a hidrólise dos ésteres e desproteção da amina. A pouca quantidade de produto **97** nos impossibilitou de seguir para a próxima etapa.

Uma alternativa encontrada para resolver o problema de pouca quantidade de material para obtenção dos análogos com os grupos ácidos e amino livres foi sintetizar os compostos <u>98</u> e <u>99</u> (Figura 9) que foram preparados por Shirahama³⁵ e por Kraus³⁷. Assim poderíamos confirmar

todas as estereoquímicas atribuídas comparando diretamente com os dados da literatura.



Figura 9: Estrutura dos compostos <u>98</u> + <u>99</u>.

Para obtenção do composto <u>98</u>, o grupamento amino do composto <u>93</u> foi protegido com cloroformiato de benzila em meio básico de NaOH 2N, seguindo procedimento descrito por Perrin⁸⁹ e posteriormente esterificado com diazometano (Esquema 62). Após purificação em coluna cromatográfica, o composto <u>98</u> foi obtido em 55% de rendimento.



Esquema 62: Obtenção do composto 98.

A estrutura do composto <u>98</u> foi confirmada através das análises de RMN de ¹H, RMN de ¹³C, IV, espectrometria de massa de alta resolução e

⁸⁹ Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; Perrin, D. R. *Purification of Laboratory Chemicals*, **1980**, 2a. ed. *Pergamon Press*, 1-563.

comparada com os valores da literatura^{35,37}. As atribuições de alguns dos hidrogênios e dos carbonos do composto **98** obtido e dos dados da literatura, estão apresentados na tabela a seguir. As Figuras 10 e 11 apresentam os espectros de RMN de ¹H do produto **98** obtido por nós e do produto **98** obtido na literatura onde podemos observar a completa similaridade entre os espectros. No espectro de RMN de ¹H é importante observar o valor do deslocamento químico do hidrogênio H2 δ 4,62 e 4,65 (d, J = 7,5Hz), confirmando a relação *cis* entre os hidrogênios dos centros estereogênicos em C-2/C-3. Através dos dados de RMN de ¹H e RMN de ¹³C podemos comprovar a estereoquímica relativa dos compostos. O espectro de massa de alta resolução apresentou o pico do íon molecular esperado para a composição C₂₄H₂₈NO₇ [M⁺ (m/z) calculado 441,1788; encontrada 441,1782]. O valor da rotação ótica medido foi de -19,6 (c 0,6; CHCl₃), porém não existe na literatura o valor medido para esse mesmo composto, a fim de que pudéssemos comparar.

Tabela 9: Dados do espectro de RMN de ¹H do composto <u>98</u> e comparação com os dadosda literatura.



II: due cânie	Dados obtidos	Dados da lit ³⁷
Hidrogenio	(δ em ppm)	$(\delta em ppm)$
H2	4,62 e 4,65 (d, <i>J</i> = 7,5Hz)	4,62 e 4,65 (d, <i>J</i> = 7,2Hz)
Н3	3,67-3,50 (m)	3,64-3,51 (m)
H4, H5a e H5b	3,99-3,85 (m) ^a	3,99-3,85 (m) ^a
H6a	2,04 e 2,08 (dd, <i>J</i> = 17,0Hz; <i>J</i> =	2,05 e 2,08 (dd, <i>J</i> = 17,1Hz; <i>J</i> =
	5,0Hz)	5,4Hz)
Нбb	2,21 e 2,24 (dd, <i>J</i> = 17,0Hz; <i>J</i> =	2,21 e 2,25 (dd, <i>J</i> = 17,1Hz; <i>J</i> =
	9,5Hz)	9,6Hz)

a) Os sinais dos hidrogênios H4, H5a e H5b estão sobrepostos com um multipleto.

Gaalaana	Dados obtidos	Dados da lit ³⁷
Cardono	$(\delta em ppm)$	$(\delta em ppm)$
C2	62,3 e 62,7	62,1 e 62,5
C3	39,1 e 39,5	39,0 e 39,4
C4	40,2 e 40,4	40,1 e 40,2
C5	48,3 e 48,9	48,1 e 48,8
C6	30,9 e 31,0	30,7 e 30,8
CH ₂ (Cbz)	67,3 e 67,4	67,1 e 67,2

Tabela 10: Dados do espectro de RMN de ¹¹	³ C do composto <u>98</u> e comparação com os
dados da lit	teratura.



Figura 10: Espectro de RMN de ¹H do composto <u>98</u> obtido em nossa síntese.



Figura 11: Espectro de RMN de ¹H do composto (±) <u>98</u> obtido por Kraus³⁷.

Em seguida, para obtenção do composto <u>99</u>, realizamos a reação de epimerização com KHMDS 0,6M seguindo a mesma metodologia utilizada para epimerização do composto protegido com o carbometoxi (<u>96</u> + <u>97</u>). O composto <u>99</u> foi obtido em 88% de rendimento após purificação em cromatografia em coluna (Esquema 63).


Esquema 63: Obtenção do composto 99.

A estrutura do composto <u>99</u> foi confirmada através das análises de RMN de ¹H, RMN de ¹³C, IV, espectrometria de massa de alta resolução. As atribuições de alguns dos hidrogênios e dos carbonos do composto <u>99</u> obtido e dos dados da literatura, estão apresentados nas Tabelas 11 e 12. As Figuras 12 e 13 apresentam os espectros de RMN de ¹H do produto <u>99</u> obtido por nós e do produto <u>99</u> obtido na literatura, e como esperado, apresentaram total similaridade. A observação do valor do deslocamento químico do hidrogênio H2 no espectro de RMN de ¹H δ 4,13 e 4,17 (d, *J*=5,7Hz) confirmou a relação *trans* entre os centros estereogênicos em C-2/C-3. O espectro de massa de alta resolução apresentou o pico do íon molecular esperado para a composição C₂₄H₂₈NO₇ [M⁺ (m/z) calculado 441,1788; encontrada 441,1750].

Através dos dados de RMN de ¹H e RMN de ¹³C podemos comprovar as estereoquímicas relativas dos compostos; porém para confirmarmos a estereoquímica absoluta seria necessário compararmos os valores da rotação ótica medido com o valor da literatura. O professor Kraus obteve o composto <u>99</u> em sua forma racêmica. O professor Shirahama obteve o composto <u>99</u> como um intermediário avançado na síntese do análogo <u>19</u> de forma totalmente desprotegida (Esquema 7, pag 19). Em sua publicação o prof. Shirahama não fornece o valor da rotação ótica para o composto **99**. Para obtermos esse dado, contamos com a colaboração do pesquisador K. Konno do Instituto Butantan que entrou em contato com o grupo do prof. Shirahama. Os e-mails trocados entre os pesquisadores K. Konno, grupo do professor Shirahama e o professor Carlos Roque, encontram-se nos apêndices. O valor da rotação ótica medido por nós foi de -38,6 (c 0,7, CHCl₃) e o valor fornecido pelo grupo do prof. Shirahama foi de -36,6 (c 1,0, CHCl₃). Com esses dados podemos afirmar que obtivemos todos os compostos de forma altamente estereosseletiva e comprovar que a reação de arilação de Heck da 3-desidroprolina **50** levou a formação das 4-aril-2-desidroprolina de forma altamente estereosseletiva.

 Tabela 11: Dados do espectro de RMN de ¹H do composto <u>99</u> e comparação com os dados da literatura.



Uidrogânio	Dados obtidos	Dados da lit ³⁷
Hidrogenio	(δem ppm)	$(\delta em ppm)$
H2	4,05 e 4,09 (d, J = 5,7Hz)	4,13 e 4,17 (d, <i>J</i> = 5,7Hz)
Н3	3,16-3,10 (m)	3,27-3,15 (m)
H4, H5a e H5b	3,76-3,98 (m) ^a	3,79-4,09 (m) ^a
Ш	1,98 (dd, <i>J</i> = 16,8Hz;	2,06 (dd, <i>J</i> = 16,8Hz;
поа	$J = 6,9 {\rm Hz}$)	<i>J</i> = 6,6Hz)
ЦСЬ	2,13 (dd, <i>J</i> = 16,8Hz;	2,16 e 2,19 (dd, <i>J</i> = 16,8Hz;
Hob	<i>J</i> = 7,5Hz)	<i>J</i> = 7,8Hz)

a) Os sinais dos hidrogênios H4, H5a e H5b estão sobrepostos como um multipleto.

Carbono	Dados obtidos	Dados da lit ³⁷
	$(\delta \operatorname{em} \operatorname{ppm})$	(δ em ppm)
C2	63,3 e 63,7	63,3 e 63,6
C3	38,0 e 38,8	37,9 e 38,7
C4	42,2 e 43,1	42,1 e 43,1
C5	49,6 e 49,9	49,6 e 49,8
C6	33,1 e 33,2	33,0 e 33,1
CH ₂ (Cbz)	67,3	67,2

Tabela 12: Dados do espectro de RMN de ¹³ C do composto <u>99</u> e comparação o	com os
dados da literatura.	



Figura 12: Espectro de RMN de ¹H do composto <u>99</u> obtido em nossa síntese.



Figura 13: Espectro de RMN de ¹H do composto (\pm) <u>99</u> obtido por Kraus³⁷.

A 3-desidroprolina <u>50</u> permitiu a síntese do composto 4-(2metoxifenil)-2-desidroprolina <u>52</u> de forma altamente estereosseletiva, sendo empregado na síntese dos análogos dos ácidos acromélicos; o análogo com configuração relativa C-2/C-3 *trans* e C-3/C-4 *trans Alo* <u>89</u>, o análogo com configuração relativa "todo *cis*" <u>93</u> e o intermediário avançado do análogo com configuração relativa C-2/C-3 *trans* e C-3/C-4 *cis* <u>99</u>.

4 Conclusões

4 CONCLUSÕES

4 CONCLUSÕES

A rota de síntese para a olefina do Ester metílico da (*S*)-*N*carbometoxi-3-desidroprolina <u>50</u> permitiu a sua obtenção após 4 etapas em ótimos rendimentos e um rendimento global de 67 %. Comparação dos valores de $[\alpha]_D$ com os da literatura comprovaram a formação da olefina <u>50</u> em total pureza ótica.

Foram desenvolvidos dois protocolos gerais para a reação de arilação de Heck do Ester metílico da (*S*)-*N*-carbometoxi-3-desidroprolina <u>50</u> com sais de diazônio que permitiram a obtenção de várias desidroprolinas 4-ariladas em bons rendimentos. O método com metanol levou a melhores resultados, permitindo o uso de sais de diazônio com substituintes eletrodoadores ou retiradores no anel aromático. A reação de arilação de Heck apresentou uma alta estereo- e regiosseletividade. Foi observada total transferência de quiralidade de C2 a C4 na reação de arilação de Heck.

Comparação com reações de arilação de Heck usando condições tradicionais com haletos ou triflatos de arila mostrou a maior eficiência da metodologia usando sais de diazônio para a olefina 3-desidroprolina <u>50</u>. Três metodologias foram utilizadas, de Jeffery, Crisp e Fu, apenas as condições de Jeffery levaram ao produto de acoplamento de Heck em rendimentos de 27-30 %.

A partir do aduto da Heck foi realizada a síntese total de 3 análogos do ácido acromélico que foram obtidos através de uma abordagem simples e direta: o análogo *alo* <u>89</u> após 2 etapas; o análogo *cis* <u>93</u> após 7 etapas e o análogo com configuração C2-C3 *trans* e C3-C4 *cis* <u>99</u> após 9 etapas.

Comparações dos espectros de RMN de ¹H, RMN de ¹³C com os dados da literatura^{35,37} permitiram atribuições inequívocas de todas as estereoquímicas dos análogos obtidos. O valor de $[\alpha]_D$ comprovou a estereoquímica absoluta obtida e confirmaram a total estereosseletividade durante a reação de arilação de Heck e em todas as etapas das sínteses.

5 Parte Experimental

5 PARTE EXPERIMENTAL

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Considerações gerais

As reações foram realizadas sob agitação magnética através de barras magnéticas recobertas de teflon por placas agitadoras magnéticas, com aquecimento, da *Corning* ou *Fisaton*.

Em reações sensíveis a umidade, a vidraria foi seca em estufa a 140-160°C por um período mínimo de 4 horas. Esta foi resfriada em dessecadores contendo pentóxido de fósforo ou sílica gel com indicador de umidade. As reações anidras foram realizadas utilizando atmosfera de argônio com grau de pureza de 99,999%.

O material de partida da rota sintética, a L-*trans*-hidroxi-prolina e todos os reagentes utilizados no decorrer do trabalho foram obtidos comercialmente através de diversas empresas fornecedoras: *Merck, Acros, Aldrich, Fluka*, etc.

A adição lenta dos reagentes foi realizada através de um adicionador automático da Sage Instruments (modelo 341-B) e as reações de hidrogenação catalítica em um aparelho Paar.

Na cromatografia de adsorção em coluna foi realizado o procedimento sugerido por Still⁹⁰, denominada cromatografia *flash* utilizando-se sílica gel (230-400mesh, 60A, *Aldrich*). A cromatografia analítica em camada delgada (CCD) foi realizada em cromatofolhas com sílica gel suportada em placa de alumínio *Merck* (com revelador para UV e espessura de 0,2 mm). A visualização dos compostos ocorreu através dos seguintes reveladores: vapor

⁹⁰ Still, W.C., J. Org. Chem. **1978**, 43, 2923.

de iodo, iodo adsorvido em sílica, ácido fosfomolíbdico 5% em etanol (seguido de aquecimento) e lâmpada UV.

As análises por cromatografia em fase gasosa foram realizadas em um aparelho HP-6890, com coluna capilar HP-5 (27 m x 0,32mm x 0,25 µm), uma pressão de 5,6 *psi* modo pressão constante e registradas por um integrador HP- 3395. As seguintes condições foram utilizadas: temperatura inicial do forno, 100 °C 1 minuto; taxa da elevação da temperatura, 10 °C por minuto até 150 °C seguido por 20 °C por minuto até 250 °C permanecendo nessa temperatura por mais 10 minutos; utilizando detector de FID.

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos nos seguintes aparelhos: Bruker AC 300/P ou Varian Gemini 2000 (300 MHz para o ¹H e 75 MHz para ¹³C); e Varian Inova 500 (500 MHz para o ¹H e 125 MHz para ¹³C). Os deslocamentos químicos (δ) foram referenciados pelo sinal do clorofórmio (δ =7,27 ppm) ou TMS (δ =0 ppm) para o RMN ¹H e (δ =77,0 ppm) para RMN ¹³C quando o solvente foi CDCl₃. Quando o solvente foi CCl₄, o TMS foi utilizado como referência, e ao utilizar-se D₂O, o sinal em 4,6 ppm foi empregado como referência para o RMN ¹H e para o espectro de RMN ¹³C, um capilar de TMS ou CCl₄ foi utilizado.

Os espectros de infravermelho foram obtidos em um *Perkin-Elmer* 1600 FTIR ou em um *Thermo Nicolet* IR200 com uma resolução de 4 cm⁻¹. A não ser quando mencionado de outra forma, as amostras foram aplicadas como filme em uma janela de NaCl ou diretamente sobre o cristal de Ge na caso de *Thermo Nicolet* IR200.

Os espectros de massa de baixa resolução, acoplados ou não à cromatografia gasosa, foram obtidos em um GC/MS HP-5988-A.

Os espectros de massa de alta resolução foram obtidos em um aparelho *Autoespec VG-autospec* através de injeção direta. Os pontos de fusão foram lidos em um aparelho *Unimelt-Capilar* da *Thomas Hoover* e não foram corrigidos.

Os solventes e reagentes, quando tratados, foram da seguinte forma⁹¹:

2,4 – Lutidina - Destilada de hidreto de cálcio sob atmosfera de nitrogênio seco e armazenada sobre peneira molecular 4 Å.

Água - Destilada.

Anidrido acético - Tratado com pentóxido de fósforo e filtrado. Tratado com carbonato de potássio e novamente filtrado. Tratado com pentóxido de fósforo e destilado sob atmosfera de nitrogênio seco.

Butillítio - Titulado com *N*-(*o*-toluil)-pivalamida segundo a literatura⁹².

Anidrido trifluoroacético - Destilado de pentóxido de fósforo, sob atmosfera de nitrogênio seco.

Peneira Molecular - Foram secas em mufla a 300°C por 6 horas.

Piridina-Destilada de hidreto de cálcio sob atmosfera denitrogênio seco e guardada sobre peneira molecular 4 Å.

Tetraidrofurano -	Destilado de sódio e benzofenona.	
Tolueno -	Destilado de sódio.	
Trietilamina	- Destilado de hidreto de cálcio.	
Diclorometano -	Destilado de hidreto de cálcio.	

⁹¹ Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; Perrin, D. R. *Purification of Laboratory Chemicals*, **1980**, 2a. ed. *Pergamon Press*, 1-563.

⁹² Suffert, J., J. Org. Chem. 1989, 54, 509.

Metanol - Destilado de magnésio metálico e iodo sob atmosfera de argônio.

Cloreto de mesila - Destilado de pentóxido de fósforo, sob atmosfera de nitrogênio seco.

Diazometano - Preparado a partir de Diazald® ou Diazogen® (*p*-tolisulfonilmetilnitrosamida), EtOH, éter etílico, água e KOH de acordo com procedimento descrito na literatura⁹³.

Metodologia para preparar o KHMDS 0,6M

Em um balão de 50 mL contendo 2,70g (20 mmol) de KH 30% em óleo mineral foram adicionados 10 mL de cicloexano seco seguidos de agitação por 2 minutos. Após todo KH se separar do cicloexano, este foi retirado do balão e mais 10 mL de cicloexano foram adicionados. Com o KH isento de óleo mineral, 20 mL de THF seco foram adicionados e a solução foi resfriada a –78 °C. 3,80 mL de HMDS (18 mmol) foram adicionados ao meio e a temperatura foi aumentada naturalmente para a temperatura ambiente. Em seguida, a solução permaneceu no ultra-som por 5 horas e após esse tempo o sobrenadante foi transferido para um frasco previamente flambado.

Metodologia para preparar feniltriflato

Em um balão seco em estufa anidra e flambado, e com o sistema fechado sob atmosfera de argônio, foi adicionado fenol (5 g; 53 mmol), CH_2Cl_2 (60 mL) e piridina (5 mL; 58 mmol). O sistema foi resfriado a –10 °C com banho de gelo/metanol e o anidrido tríflico (10 mL; 58 mmol) foi

⁹³ Ikota, N.; Takamura, N.; Young, S. D.; Ganem, B. Tetrahedron Lett. 1981, 22, 4163.

adicionado lentamente com seringa, cuidando para a temperatura não aumentar mais do que -2 °C. Ao final da adição, a mistura foi agitada por 1 hora a -10 °C e logo após a temperatura foi aumentada a temperatura ambiente por 18 horas. Ao final desse tempo foi adicionado água ao meio reacional e agitada por mais 15 minutos. As fases foram separadas e a fase orgânica foi lavada com HCl 0,2 N, água, NaCl saturado, seca em Na₂SO₄ e concentrada a vácuo. O bruto da reação foi purificado por cromatografia *flash* (EtOAc/hexano 1:4) fornecendo o feniltriflato em 86% de rendimento (10g, 40 mmol) como um óleo incolor. 5.2 Preparação do Ester metílico da (2*S*,4*R*)-*N*-metoxicarbonil-4hidroxiprolina <u>53.</u>



A L-*trans*-4-OH-prolina (10g, 0,077 mol) e o K₂CO₃ anidro (10,6g, 0,077 mol) foram dissolvidos em 160 mL de MeOH seco, à temperatura ambiente e sob atmosfera inerte de argônio. O sistema foi resfriado à 0 °C e adicionou-se o CH₃OCOCl (18,2g, 0,19 mol). A mistura foi mantida sob agitação por 12 horas. Ao final desse tempo o solvente foi evaporado e ao resíduo adicionou-se 50 mL de água destilada. O produto foi extraído com CH₂Cl₂ (3x80 mL), seco em Na₂SO₄ anidro, filtrado e o solvente foi evaporado sob vácuo até secura. O composto <u>53</u> foi obtido em 94% de rendimento (14,6g, 0,072 mol) como um sólido branco.

Rf: 0,58 (AcOEt 100%);

PF 50-52 °C.

 $[\alpha]^{25}_{D} - 89 (c 0.65; CHCl_3)$

IV (cm⁻¹): 3402, 3242, 3144, 2964, 2933, 1748, 1698, 1462, 1397, 1208, 1175, 775. **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ)**: 2,04-2,00 (m, 1H); 2,36-2,22 (m,1H); 3,05 (s, 1H); 3,57-3,44 (m, 2H); 3,62 (s, 1,5H); 3,65 (s, 1,5H); 3,68 (s, 1,5H); 3,70 (s, 1,5H); 4,43-4,40 (m, 2H); (presença de rotâmeros).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ): 38,4 (CH₂), 39,1 (CH₂); 52,3 (CH₃); 52,7 (CH₂);
52,8 (CH₂); 54,5 (CH₃); 55,1 (CH₃); 57,6 (CH); 57,9 (CH); 69,1 (CH); 69,9 (CH);
155,2 (C₀); 155,5 (C₀); 173,0 (C₀); (presença de rotâmeros).

ESI – ms (mode +): 204 (M+1); 172; 144; 80.

5.3 Preparação do Ester metílico da (2*S*,4*R*)-*N*-metoxicarbonil-4mesiloxiprolina <u>54</u>.



A uma solução de <u>53</u> (10g, 0,049 mol) em 250 mL de CH_2Cl_2 seco, sob agitação, atmosfera inerte de argônio e à 0°C, foi adicionado Et₃N seca (7,6 mL, 0,055 mol) seguido pela adição do MsCl (3,85 mL, 0,064 mol). Quantidade catalítica de DMAP (0,005 mol) foi adicionada e a mistura reacional foi agitada a 0 °C por 1,5h. Ao final desse tempo a mistura foi vertida em 100 mL de água gelada em agitação por 10 minutos. As fases foram separadas. A fase aquosa foi tratada com CH_2Cl_2 (3x50 mL) e a fase orgânica foi lavada com 100 mL de solução 0,1M de HCl; 100 mL de solução a 5%p/v de NaHCO₃, 50 mL de solução saturada de NaCl e seca com Na₂SO₄ anidro. O solvente foi evaporado sob vácuo até secura. O bruto da reação foi purificado por cromatografia *flash* (EtOAc/hexano 3:2) fornecendo <u>54</u> em 94% de rendimento (13g, 0,05 mol) como um sólido branco.

Rf: 0,52 (Hex/AcOEt 1:4).

PF= 69,5-71,5 °C.

 $[\alpha]_{D}^{20}$ -56 (c 0,6; CHCl₃)

IV (cm⁻¹): 3026, 2954, 1752, 1737, 1701, 1452, 1390, 1342, 1208, 1168, 983, 783. **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ)**: 2,34-2,22 (m, 1H); 2,73-2,58 (m, 1H); 3,06 (s, 3H); 3,70 (s, 1,5H); 3,73 (s, 1,5H); 3,75 (s, 1,5H); 3,77 (s, 1,5H); 3,97-3,79 (m, 2H); 4,54-4,45 (m,1H); 5,30 (m, 1H), (presença de rotâmeros). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ): 32,1 (CH₂); 36,9 (CH₃); 38,1 (CH₂); 39,2 (CH₃);
52,9 (CH₂); 53,1 (CH₃); 53,2 (CH₂); 53,5 (CH₃); 57,6 (CH); 58,0 (CH); 78,1 (CH);
78,5 (CH); 155,0 (C₀); 155,4 (C₀); 172,5 (C₀); (presença de rotâmeros).
ESI – ms (mode +): 282 (M+1); 250; 222; 186; 158; 126.

5.4 Preparação Ester metílico da (2*S*,4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4fenilselenoprolina <u>55</u>.



Difenildiselenenila (7,8g, 0,025 mol) foi dissolvido em 100 mL do sistema *t*BuOH:THF (3:2) à 60°C. A esse sistema adicionou-se NaBH₄ (1,74g, 0,046 mol) em porções, com a reação sob agitação e sob atmosfera de argônio. Formou-se um sólido amarelo claro. Por uma cânula adicionou-se o composto **54** (10g, 0,036 mol) dissolvido em 50 ml do sistema *t*BuOH:THF (3:2). A reação foi mantida em refluxo por 2,5h. Eliminou-se o solvente por vácuo e o produto foi diluído em 150 mL de AcOEt, lavado com 50 mL de água, seco em Na₂SO₄ anidro, filtrado e o solvente foi evaporado sob vácuo até secura. O produto bruto foi purificado por cromatografia *flash* (EtOAc/hexano 1:2) fornecendo **55** em 93% de rendimento (11,3g, 0,033 mol) como um sólido branco.

R*f*: 0,35 (Hex/AcOEt 2:1); **PF** = 37-38,5 °C. $[\alpha]^{20}{}_{\rm D}$ -30,5 (c 0,5; CHCl₃) **IV (cm⁻¹)**: 2954, 1740, 1691, 1454, 1381, 1209, 1176; 1111; 739. **RMN** ¹**H** (**300 MHz, CDCl₃, \delta**): 2,15-2,03 (m,1H); 2,75-2,63 (m, 1H); 3,60-3,43 (m, 2H); 3,66 (s, 1,5H); 3,70 (s, 1,5H); 3,73 (s, 1,5H); 3,74 (s, 1,5H); 3,97-3,91 (dd, *J*=7,2Hz, *J*=10,5Hz, 0,5H); 4,07-4,01 (dd, *J*=7,2Hz, *J*=10,5Hz, 0,5H); 4,39-4,29 (dd, *J*=7,2Hz, *J*=14,7Hz, 1H); 7,30-7,26 (m, 3H); 7,55-7,53 (m, 2H) (presença de rotâmeros).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ): 37,2 (CH₂); 37,6 (CH₂); 37,8 (CH₂); 38,5 (CH₂);
52,9 (CH₃); 53,3 (CH₃); 53,6 (CH); 54,0 (CH); 58,9 (CH); 59,5 (CH); 128,3 (C₀);
128,6 (CH); 129,7 (CH); 135,3(CH); 155,3 (C₀); 172,7(C₀); (presença de rotâmeros).
ESI – ms (mode +): 344 (M+1); 342; 340; 284; 282; 269; 267; 209; 207; 149; 80;
73.

5.5 Preparação do Ester metílico da (*S*)-*N*-metoxicarbonil-3,4desidroprolina <u>50</u>.



A uma solução de <u>55</u> (5g, 0,015 mol) e piridina (2,6 mL, 0,022 mol) em 50 mL de CH_2Cl_2 seco, foi gradualmente adicionado H_2O_2 a 30% v/v (5 mL, 0,037 mol); durante a adição o recipiente foi resfriado em banho de gelo. A mistura reacional foi agitada vigorosamente à temperatura ambiente por 2h. Ao final a reação foi diluída com 50 mL de CH_2Cl_2 e lavada com 30 mL de solução aquosa de HCl 5%, 30 mL solução saturada de NaHCO₃ e 30 mL solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca em Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente foi evaporado sob vácuo até secura. O produto bruto foi purificado por cromatografia *flash* (EtOAc/hexano 1:2) fornecendo <u>50</u> em 75% de rendimento (2,03g, 0,011 mol), como um óleo incolor.

Rf: 0,30 (Hex/AcOEt 2:1);

 $[\alpha]^{24}_{D}$ -334 (c 1; CHCl₃)

IV (cm⁻¹): 2956, 2869, 1753, 1707, 1621, 1451, 1388, 1346, 1203, 1127, 1007, 778. **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ)**: 3,67 (s, 3H); 3,74 (s, 3/2H); 3,75 (s, 3/2H); 4,31-4,23 (m, 2H); 5,05-5,00 (m, 0,5H); 5,79-5,72 (m, 1H); 6,02-5,94 (m, 1H).

RMN ¹³**C (75 MHz, CDCl₃, δ)**: 52,3 (CH₃); 52,6 (CH₂); 53,2 (CH₃); 53,8 (CH₂); 66,1 (CH); 66,4 (CH); 124,5 (C₀); 128,9 (C₀); 129,0 (C₀); 154,4 (C₀); 154,7 (C₀); 170,2 (C₀); 170,4 (C₀); (presença de rotâmeros).

HRMS (70 eV, IE): m/z = 185; 158; 126; 94; 82; 67. Massa exata calculada para C₈H₁₁NO₄ 185,0688; encontrada 185,0628.

5.6 Preparação da (S)-3,4-desidroprolina 56.



Uma solução de <u>50</u> (50 mg, 0,30 mmol) em HCl 6N (1,5 mL) foi aquecida a 110 °C e o consumo do material de partida foi acompanhado por CCD. Ao final de 42h o HCl 6N foi evaporado sob vácuo até secura. O produto da reação foi purificado por resina de troca iônica Dowex 50x8 (eluição com uma solução de NH₄OH 5%). A solução de NH₄OH foi removida sob vácuo, fornecendo o aminoácido <u>56</u> como um sólido branco em 92% de rendimento (28 mg, 0,24 mmol).

 $[\alpha]_D^{24} = -406 \text{ (c } 1,4, \text{água})$ **IV (cm⁻¹)**: 3379, 3023, 2472, 1642, 1605, 1372, 1288, 1172. **RMN ¹H (300 MHz, CD₃CO₂D, \delta)**: 4,37-4,20 (m, 2H); 5,15 (s, 1H); 5,92 (dd, J = 6,0, J = 1,5, 1H); 6,03 (dd, J = 6,3, J = 1,5, 1H). **RMN** ¹³**C (75 MHz, CD₃CO₂D, δ)**: 53,9 (CH₂); 69,8 (CH); 126,2 (CH); 126,8 (CH); 172,5 (C₀).

5.7 Procedimento geral para síntese dos sais de diazônio.

a) Em meio ácido⁹⁴:



Em um erlenmeyer de 250mL, foram adicionados (50mmol) da anilina, 12,6mL de água e 12,6mL de ácido clorídrico concentrado. Após 20 minutos de forte agitação o erlenmeyer foi mergulhado num banho de salmora e gelo seco. Uma solução de 4,5g (65 mmol) de nitrito de sódio em 9 mL de água foi adicionada, mantendo-se a temperatura do meio reacional abaixo de -5 °C. Após 15 minutos do término da adição, outra solução, contendo 7,6g (69 mmol) de tetrafluorborato de sódio em 15mL de água, foi adicionada de uma só vez, causando a precipitação do produto. A suspensão foi então filtrada e lavada com éter etílico. O precipitado foi dissolvido em 150mL de acetona e novamente filtrado. Ao filtrado foram adicionados 100mL de éter etílico que causou a precipitação do produto. O sal de diazônio foi obtido na forma de um sólido, após filtração. Os rendimentos variaram de 58-74% dependendo da anilina utilizada.

⁹⁴ Roe, A., Org. React. 1949, 105, 193.

R	Rend (%)	PF (°C)
<i>p</i> -OMe	72	137-138
o-OMe	65	110-113
<i>m,m,p</i> -OMe	58	148-150
Н	75	128-129
<i>p</i> -Cl	74	133-133,5
<i>p</i> -F	60	146-147

Tabela 15 – Ponto de Fusão dos Sais de Diazônio.

b) Em meio neutro⁹⁵:



A uma solução da anilina (19,85 mmol) em CH_2Cl_2 (40 mL), resfriada em banho de gelo, foi adicionado o tetrafluoroborato de nitrônio (2,6 g; 21,8 mmol; 11 equiv.). A mistura reacional permaneceu sob agitação magnética nesta temperatura por 30 minutos. Adicionou-se então 100 mL de Et_2O e a solução foi filtrada a vácuo. O sólido branco obtido foi dissolvido em acetona, precipitado pela adição de Et_2O (150 mL) e novamente filtrado a vácuo. Este procedimento foi repetido mais duas vezes. O sal de diazônio foi obtido na forma de um sólido branco, após filtração. O rendimento para o derivado da acetofenona foi de 86% (PF = 98,0-98,6 °C) e para o derivado da piridina foi de 50% (PF = 108-109 °C).

⁹⁵ Synthetic Communications **1992**, *22*, 73.

5.8 Procedimento para preparação do Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-aril-2,3-desidroprolina.

5.8.1 Metodologia A:



Reação de Heck:

Em uma solução de 44 mg (0,24 mmol) da olefina <u>50</u> em 2,0 mL de água foram adicionados 187mg (0,59 mmol) do sal de diazônio (*p*-MeO-C₆H₄-N₂BF₄) e 5,31 mg (0,024 mmol) do Pd(OAc)₂. A mistura foi agitada durante 4 horas à 60°C. Após o consumo total do material de partida, a reação foi diluída com 10 mL de AcOEt e lavada com 5 mL de solução saturada de NaHCO₃ e solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca em Na₂SO₄ anidro, filtrada e evaporada sob vácuo até secura. O produto (lactamol) foi submetido à reação seguinte sem purificação.

Reação de eliminação do lactamol ao enecarbamato 60:

O lactamol (148 mg, 0,48 mmol) foi dissolvido em 5 mL de tolueno seco e 2,4-lutidina (0,3 mL, 2,4 mmol). Sobre essa mistura a 0 0 C, foi adicionada uma solução 0,72 M de anidrido trifluoroacético em tolueno (0,53 mmol). Após a adição o banho de gelo foi retirado e a mistura reacional foi agitada por 18h. Após esse período, a mistura reacional foi aquecida a refluxo por 4h. Ao final, a reação foi transferida para um funil de separação contendo acetato de etila seguido por extração com solução saturada de NaHCO₃ e solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca em Na₂SO₄, filtrada, e o solvente evaporado à vácuo até secura. O produto bruto foi purificado por cromatografia *flash* em sílica gel (AcOEt/Hex 1:3), fornecendo o enecarbamato <u>60</u> como um óleo pálido em rendimentos de 60% a partir da desidroprolina <u>50</u>.

5.8.2 Metodologia B:



Reação de Heck:

A desidroprolina <u>50</u> (50mg, 0,27 mmol) foi dissolvida na mistura de solventes H₂O:CH₃CN:AcOH (6:3:1) levando o pH da reação a 3,0 e em seguida foram adicionados 2,0 equivalentes do sal de diazônio (0,54mmol), adicionados em porções ao longo da reação e 10 mol% de Pd(OAc)₂. Após o consumo total do material de partida, a reação foi diluída com 40 mL de AcOEt e lavada com 20 mL de solução saturada de NaHCO₃ e solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca em Na₂SO₄ anidro, filtrada e evaporada sob vácuo até secura. O produto foi filtrado em sílica gel e utilizado na próxima reação sem purificação.

Reação de eliminação dos lactamóis aos enecarbamatos:

Mesmo procedimento utilizado na metodologia A para obtenção do enecarbamato <u>60</u>. Após cromatografia em coluna, os enecarbamatos <u>60</u> e <u>52</u>

foram obtidos em rendimentos de 65% e (60-70%), respectivamente, a partir da desidroprolina **50**.

5.8.3 Metodologia C:



Reação de Heck:

A uma solução da olefina <u>50</u> (50 mg; 0,27 mmol) em 1,0 mL de metanol, foi adicionado o sal de diazônio (0,54mmol), adicionados em porções ao longo da reação e 10 mol% de Pd(OAc)₂. A mistura foi agitada à 60 °C. Transcorrido 2h de reação foram adicionados mais do sal de diazônio. Após o consumo total do material de partida, a reação foi diluída com 20 mL de AcOEt e lavada com 50 mL de solução saturada de NaHCO₃ e solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca em Na₂SO₄ anidro, filtrada e evaporada sob vácuo até secura. O produto da reação foi filtrado em sílica gel, para reter o paládio e o excesso do sal de diazônio, levando a formação dos produtos de acoplamento <u>75-79</u> em rendimentos de 86 %; 92 %; 97 %; 55 % e 62 % respectivamente.

Reação de eliminação do metoxi aos enecarbamatos:

Ao bruto da reação anterior, seco em alto vácuo, foi adicionado NH₄Cl (20 mol %) e acoplado um condensador de refluxo. A mistura foi aquecida a 150 °C sob pressão reduzida por 3h. Após cromatografia em coluna, os

enecarbamatos foram obtidos em rendimentos de 70-95% a partir da 3desidroprolina **50**. **60** (70%); **52** (95%); **80** (90%).

5.8.4 Caracterização do Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(4-metoxifenil)-2,3-desidroprolina <u>60</u>.



Rf: 0,48 (Hex/AcOEt 2:1);

 $[\alpha]_{D}^{20}$ -40 (c 2, CH₃Cl)

IV (cm⁻¹): 2994; 2950; 2842; 1748; 1724; 1704; 1616; 1518; 1460; 1386; 1255; 1206; 1035; 781.

RMN ¹**H** (**300 MHz, CDCl₃, δ**): 3,74 (s, 3H); 3,80 (s, 3H); 3,80-3,85 (dd, J=6,6Hz, J=11,7Hz, 1H); 3,85 (s, 3H); 4,12 (ddd, J=3,0Hz, J=10Hz, J=6,6Hz, 1H); 4,31 (dd, J=10,8Hz, J=11,1Hz, 1H); 5,85 (d, J=3,0Hz, 1H); 6,85 (d, J=9,0Hz, 2H); 7,08 (d, J=8,7Hz, 2H).

RMN ¹³**C (75 MHz, CDCl₃, δ)**: 46,3; 52,4; 53,1; 55,3; 56,9; 114,3; 122,7; 128,3; 133,7; 136,5; 154,0; 158,9; 162,4.

ESI – ms (mode +): Turbo Spray = : 292,5; 260; 228; 142; 83.

5.8.5 Caracterização do Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-2,3-desidroprolina <u>52</u>.



Rf: 0,48 (Hex/AcOEt 2:1);

 $[\alpha]^{20}_{D}$ -116,8 (c 0,6, CH₃CN)

IV (cm⁻¹): 2955; 2930; 2867; 1714; 1592; 1509; 1259; 1123; 810.

RMN ¹**H** (**300 MHz**, **CDCl**₃, δ): 3,72 (s, 3H); 3,79 (dd, J=5,7Hz, J=10,8Hz, 1H); 3,82 (s, 3H); 3,86 (s, 3H); 4,32 (dd, J=10,8Hz, sinal sobreposto, 1H); 4,44 (ddd, J=3,0Hz, J=6,0Hz, J=5,4Hz, 1H); 5,93 (d, J=3,0Hz, 1H); 6,94-6,85 (m, 2H); 7,11 (m, 1H); 7,27-7,21 (m, 1H).

RMN ¹³**C (75 MHz, CDCl₃, δ)**: 41,0; 52,4; 53,0; 55,4; 55,6; 110,3; 120,6; 121,8; 127,4; 128,26; 129,6; 136,7; 154,0; 156,6; 162,2. (Presença de sinais do solvente acetato de etila).

HRMS (70 eV, IE): m/z = 291, 266, 248, 232, 216, 200, 172, 134, 115, 91. Massa exata calculada para C₁₅H₁₇NO₅ 291,1107; encontrada 291,1075. 5.8.6 Caracterização do Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(4-clorofenil)-2,3-desidroprolina<u>80</u>.



Rf: 0,50 (Hex/AcOEt 2:1);

 $[\alpha]^{24}_{D}$ – 120 (c 0,2, CH₃CN)

IV (cm⁻¹): 2953; 2930; 1722; 1704; 1510; 1390; 1259; 1206; 794.

RMN ¹**H (300 MHz, CDCl₃, δ)**: 3,74 (s, 3H); 3,85-3,75 (m, 1H); 3,86 (s, 3H); 4,14 (dd, J = 3,0 Hz, J = 6,3 Hz, 1H); 4,33 (dd, J = 10,5 Hz, J = 11,1 Hz, 1H); 5,82 (d, J= 3,0Hz, 1H); 7,12 (d, J=8,4Hz, 2H); 7,30 (d, J=8,4Hz, 2H).

RMN ¹³**C (75 MHz, CDCl₃, δ)**: 46,3 (CH); 52,4 (CH3); 53,1 (CH3); 56,5 (CH2); 121,3 (CH); 128,5 (CH); 128,6 (CH); 128,9 (CH); 129,1 (CH); 133,3 (Co); 137, 0 (Co); 140, 0 (Co); 153,8 (Co); 162,2 (Co).

HRMS (70 eV, IE): m/z = 295; 270; 165; 139; 88; 59. Massa exata calculada para C₁₄H₁₄ClNO₄ 295,0611; encontrada 295,0615.

5.9 Reação de Heck empregando as condições de Jeffery, Obtenção do Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-fenil-2,3-desidroprolina 81.



Uma suspensão de K₂CO₃ (93 mg; 0,67mmol) e *n*-Bu₄NHSO₄ (90mg, 0,27 mmol) em CH₃CN/H₂O 10:1 (0,2 mL) foi agitada por 20 minutos. Após este período, foram adicionados o iodobenzeno (30 μ L; 0,27 mmol) e a 3-desidroprolina <u>50</u> (100 mg; 0,53 mmol). Após 15 minutos foi adicionado o Pd(OAc)₂ (5,0 mg; 0,013 mmol). A mistura reacional foi aquecida a 60 °C e mantida sob agitação magnética por 24 horas. Após o consumo total do material de partida, a reação foi diluída com 10 mL de AcOEt e lavada com 5 mL de solução saturada de NaHCO₃ e solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca em Na₂SO₄ anidro, filtrada e evaporada sob vácuo até secura. O produto bruto foi purificado por cromatografia *flash* em sílica gel (AcOEt/Hex 1:2), fornecendo o enecarbamato <u>81</u> como um óleo pálido em rendimentos de 28%.

Rf: 0,52 (Hex/AcOEt 2:1);

 $[\alpha]^{24}_{D}$ -75 (c 0,8, CH₃CN)

IV (cm⁻¹): 2954; 1744; 1710; 1622; 1445; 1390; 1351; 1200; 761; 701.

RMN ¹**H** (300 MHz, CDCl₃, δ): 3,74 (s, 3H); 3,79 (dd, J = 5,7Hz, J = 10,8Hz, 1H); 3,86 (s, 3H); 4,20-4,14 (m, 1H); 4,35 (dd, J = 10,8Hz, sinal sobreposto, 1H); 5,88 (d, J = 3,0Hz, 1H); 6,94-6,85 (m, 5H).

RMN ¹³**C (75 MHz, CDCl₃, δ)**: 47,0; 52,0; 53,1; 57,0; 122,1; 127,1; 127,3; 127,8; 128,8; 129,3; 130,3; 136,6; 141,5; 162,2.

HRMS (70 eV, IE): m/z = 261; 236; 218; 202; 186; 170; 143; 115; 77; 59. Massa exata calculada para C₁₄H₁₅NO₄ 261,1001; encontrada 261,1029.

5.10 Tentativa de reação de Heck empregando as condições de Fu

Pd₂(dba)₃.dba (8,0 mg; 0,01 mmol; 2 mol %) e [HP(*t*-Bu)₃]BF₄ (9,0 mg; 0,03 mmol; 6 mol %) foram pesados e transferidos para um tubo de Schlenk, que foi evacuado e preenchido com argônio (cinco vezes). Em seguida, foram adicionados de uma só vez o dioxano (0,5 mL), o *p*-bromoanisol (62 μ L; 0,5 mmol; 1,1 equiv.), a 3-desidroprolina <u>50</u> (100 mg; ,054 mmol; 1,1 equiv.), sendo o tubo de Schlenk selado e a mistura reacional mantida sob agitação magnética à temperatura de 60 °C por um período de 48 horas. Á análise do meio reacional por CCD e cromatografía gasosa após este tempo indicava basicamente a presença no meio reacional do material de partida, que foi recuperado por cromatografía em coluna (hexano/EtOAc 2:1; 40 % de recuperação).

5.11 Tentativa de reação de Heck empregando as condições de Crisp

A um tubo de Schlenk foi adicionado a 3-desidroprolina <u>50</u> (50 mg, 0,26 mmol), DMF (7 mL), 2,4 equivalentes de K₂CO₃ (87 mg; 0,63 mmol), 4 equivalentes de água (19 mg; 1 mmol), 1 equivalente de Bu₄NOAc (78 mg, 0,26 mmol) e 1,5 equivalentes de benzeno triflato (88 mg; 0,39 mmol). Sob atmosfera de argônio o Pd(OAc)₂ (9 mg; 0,026 mmol) foi introduzido a mistura reacional. Após 30 min a temperatura ambiente, a reação foi aquecida

a 60 °C por 18h. O resíduo foi diluído com éter. Análise do meio reacional por CCD e cromatografia gasosa indicaram que não ocorreu reação. O material de partida foi recuperado por cromatografia em coluna (hexano/EtOAc 2:1; 80 % de recuperação).

5.12 Obtenção do Ester metílico da (4*S*,3*R*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-3-dietiloxicarbonilprolina <u>85</u>.



A uma suspensão do NaH (28 mg; 1,14 mmol) em THF (4 mL), foi adicionado dietilmalonato (0,2 mL; 1,23 mmol) a 0°C. Após 30 min, uma solução do enecarbamato <u>52</u> (300 mg; 1,03 mmol) em THF (5 mL) foi adicionado a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 18h a temperatura ambiente. Ao final a reação foi tratada com solução saturada de NH₄Cl e extraído com éter etílico. A fase orgânica foi seca em Na₂SO₄ anidro, filtrada, e o solvente evaporado à vácuo até secura. O produto bruto foi purificado por cromatografia *flash* em sílica gel (AcOEt/Hex 1:2), fornecendo <u>85</u> (393 mg, 0,86 mmol) em 85% de rendimento como um óleo pálido.

R*f*: 0,27 (Hex/AcOEt 2:1), [α]²⁰_D = +3.2 (c 0,8, CH₃CN) **IV (cm⁻¹)**: 2980; 2955; 1748; 1730; 1706; 1612; 1515; 1451; 1390; 1250; 1176; 1030; 833; 772. **RMN** ¹**H (300 MHz, CDCl₃, \delta)**: 1,28-1,12 (m, 6H); 3,27-3,39 (m, 1H); 3,63-3,50 (m, 2H); 3,70 (s, 3H); 3,74 (s, 3H); 3,80 (s, 3H); 4,13-3,90 (vários sinais sobrepostos, 6H), δ 4,52 e 4,50 (d, J = 4,2 Hz, 1H); 6,94-6,83 (m, 2H); 7,25-7,19 (m, 2H) (Presença de rotâmeros).

RMN ¹³**C** (**75 MHz, CDCl₃, δ**): 13,8 (CH₃); 13,9 (CH₃); 41,0 (CH); 41,9 (CH); 46,9 (CH₂); 48,2 (CH₂); 51,3 (CH); 51,5 (CH); 52,2 (CH₃); 52,3 (CH₃); 52,6 (CH₃); 52,7 (CH₃); 55,3 (CH₃); 61,5 (CH₂); 61,6 (CH); 62,1 (CH); 110,7 (CH); 120,7 (CH); 125,6 (CH); 128,5 (CH); 128,6 (CH); 128,8 (C₀); 154,7 (C₀); 155,1 (C₀); 157,8 (C₀); 167,5 (C₀); 167,6 (C₀); 172,8 (C₀); (Presença de rotâmeros).

HRMS (70 eV, IE): m/z = 451; 419; 392; 346; 318; 259; 232; 134; 91. Massa exata calculada para C₂₂H₂₉NO₉ 451,1842; encontrada 451,1882.

5.13 Obtenção da (4*S*,3*R*,2*R*)-4-(2-metoxifenil)-3-ácido etanóico prolina 89.



O composto <u>85</u> (40 mg, 0,09 mmol) em HCl 6N (3,8 mL) foi refluxado por 3 dias. Ao final da reação, o HCl foi evaporado e o produto foi purificado por resina de troca iônica Dowex 50x8 (eluição com uma solução de NH_4OH 5%). A solução de NH_4OH foi removida sob vácuo, fornecendo o aminoácido <u>89</u> como um sólido pardo em 61% de rendimento (15 mg, 0,05 mmol). **R***f*: 0,38 (metanol) **PF** = 210-210,5 °C. [*α*]²³_D = -19 (c 0,2, H₂O) **IV (cm⁻¹)**: 3422; 2959; 1735; 1604; 1552; 1495; 1403; 1246; 1027; 754; 477. **RMN**¹**H (300 MHz, D₂O, δ)**: 7,40-7,26 (m, 2H,); 7,11-7,0 (m, 2H); 4,08 (d, *J* = 7,8Hz, 1H); 3,90 (s, 3H); 3,70-3,59 (m, 3H); 3,04-2,90 (m, 1H); 2,71 (dd, *J* = 3,6Hz, *J* = 15,0 Hz, 1H); 2,52 (dd, *J* = 8,1Hz, *J* = 15,3 Hz, 1H). **RMN**¹³**C (75 MHz, D₂O, δ)**: 181,1; 176,4; 160,1; 157,0; 128,6; 123,8; 118,9; 114,6; 68,4; 58,3; 52,3; 48,7; 47,7; 42,4. (Os sinais em 60,5; 132,5 e 131,8 ppm são do solvente tolueno).

HRMS (70 eV, IE): m/z = 279, 216, 190, 174, 155, 134, 118, 91, 69. Massa exata calculada para C₁₄H₁₇NO₅ 279,1107; encontrada 279,1144.

5.14 Obtenção do Ester metílico da (4*S*,2*R*,3*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-3-dietiloxicarbonil fenilselanilprolina <u>90</u>.



A uma solução do composto <u>85</u> (215 mg, 0,48 mmol) em 6 mL de THF anidro, foi adicionado uma solução 1M de LiHMDS (0,65 mL, 0,53 mmol) a 0 0 C. Após 30 min uma solução de PhSeBr (135 mg, 0,57 mmol) em 5 mL de THF foi adicionada a 0 0 C. A mistura foi agitada por 18h a temperatura ambiente. Ao final a reação foi tratada com solução saturada de NH₄Cl e extraído com éter etílico. A fase orgânica foi seca em Na₂SO₄ anidro, filtrada, e o solvente evaporado à vácuo até secura. O produto bruto foi purificado por cromatografia *flash* em sílica gel (AcOEt/Hex 1:3), fornecendo <u>90</u> (260 mg, 0,44 mmol) em 89% de rendimento.

Rf: 0,29 (AcOEt/Hex 1:2)

 $[\alpha]^{25}{}_{\rm D} = +9 (c 1, 0, CH_3Cl)$

IV (cm⁻¹): 2982; 2950; 1709; 1494; 1464; 1392; 1241; 1026; 750.

RMN ¹**H** (**300 MHz, CDCl₃, δ**): 0,94-0,82 (m, 3H); 1,16-1,07 (m, 3H); 3,40-3,32 (m, 1H); 3,70 (s, 3H); 3,74 (s, 3H); 3,80 (s, 3H); 4,19-3,74 (m, 7H); 5,07 (d, J = 16,5Hz, 1H); 6,94-6,81 (m, 2H); 7,33-7,10 (m, 5H); 7,60-7,48 (m, 2H). **RMN** ¹³**C** (**75 MHz, CDCl₃, δ**): 13,2; 13,6; 41,3; 42,1; 51,7; 52,3; 52,5; 52,9; 55,1; 61,3; 61,8; 62,1; 62,5; 62,9; 64,3; 110,5; 120,3; 125,4; 126,3; 127,8; 128,4; 129,4; 137,7; 154,5; 156,9; 167,4; 172,1; 172,4.

HRMS (70 eV, IE): m/z = 607; 548; 451; 390; 345; 292; 232; 134; 91. Massa exata calculada para C₂₈H₃₃NO₉Se 607,1323; encontrada 607,1329.

5.15 Obtenção do Ester metílico da (4*S*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-3dietiloxicarbonil-metileno-4-(2-metoxifenilprolina <u>91</u>.



Peróxido de hidrogênio (0,3 mL) foi adicionado a 0^{0} C a uma solução do composto <u>90</u> (170 mg, 0,38 mmol) em THF (8,0 mL). Após 30 min a reação foi levada à temperatura ambiente e agitada por 12h. Ao final a reação foi

tratada com solução saturada de NaSO₃, a fase orgânica foi seca em Na₂SO₄ anidro, filtrada, e o solvente evaporado à vácuo até secura. O bruto da reação foi purificado por cromatografia *flash* (EtOAc/hexano 1:4), fornecendo <u>**91**</u> (116 mg, 0,26 mmol) em 90% de rendimento.

CCD: Rf=0,25 (AcOEt/Hex 1:4 (3x)).

 $[\alpha]^{23}_{D} = -6.5 \text{ (c } 1.2; \text{ CH}_3\text{Cl)}$

IV (cm⁻¹): 2987; 2932; 1750; 1731; 1709; 1496; 1450; 1386; 1196; 1027; 772. **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, 60 °C, \delta)**: 0,96 (t, *J* = 7,2Hz, 3H); 1,29 (t, *J* = 7,2Hz, 3H); 3,30 (dd, *J* = 8,7Hz, *J* = 10,8Hz, 1H); 3,76-3,53 (m, 2H); 3,74 (s, 3H); 3,77 (s, 3H); 3,80 (s, 3H); 4,37-4,22 (m, 3H); 4,78 (dd, *J* = 8,7Hz, *J* = 9,0Hz, 1H); 5,92 (s, 1H); 6,88-6,80 (m, 2H); 7,20-7,18 (m, 2H).

RMN ¹³**C (75 MHz, CDCl₃, δ)**: 13,5; 14,1; 43,3; 51,8; 52,6; 53,0; 55,4; 61,0; 61,6; 63,7; 110,1; 120,5; 124,8; 126,7; 128,4; 129,0; 154,3; 156,8; 163,4; 163,8; 168,7.

HRMS (70 eV, IE): m/z = 449, 417, 390, 344, 298, 270, 242, 184, 121. Massa exata calculada para C₂₂H₂₇NO₉ 449,1685; encontrada 449, 1679.

5.16 Obtenção do Ester metílico da (4*S*,3*S*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-3-dietiloxicarbonilprolina <u>92</u>.



A uma solução de <u>91</u> (100 mg, 0,24 mmol) em 5 mL de etanol, foi adicionado óxido de platina (IV) (11 mg, 0,05 mmol). A reação se procedeu sob atmosfera de hidrogênio a 80 *psi* e a temperatura ambiente por 30 horas. A filtração do catalisador em celite levou ao composto <u>92</u>. O bruto da reação foi purificado por cromatografia *flash* (EtOAc/hexano 1:4), fornecendo <u>92</u> (91 mg, 0,20 mmol) em 92% de rendimento.

R*f*: 0,22 (AcOEt/Hex 1:4 (3x))

 $[\alpha]_{D}^{23} = -17 (c 1,0; CH_3Cl)$

IV (cm⁻¹): 2987; 2950; 1748; 1732; 1707; 1446; 1385; 1242; 1193; 1025; 755. **RMN** ¹**H** (**300 MHz, CDCl₃, \delta**): 1,40-1,12 (m, 6H); 3,29 (d, *J* = 5,7Hz, 1H); 3,57 (s, 3H); 3,70 (s, 3H); 3,74 (s, 3H); 3,80-4,20 (vários sinais sobrepostos, 8H), 4,85 (d, *J* = 8,1Hz, 1H); 6,91-6,6 (m, 2H); 7,55-7,36 (m, 2H) (Presença de rotâmeros).

RMN ¹³**C (75 MHz, CDCl₃, δ)**: 13,9; 14,1; 36,8; 37,9; 43,2; 44,3; 51,5; 51,8; 51,9; 52,3; 52,7; 54,9; 59,1; 59,9; 60,3; 61,4; 61,5; 110,0; 120,4; 126,2; 128,4; 129,9; 155,1; 155,3; 157,0; 167,0; 167,6; 168,0; 170,4; 170,5 (Presença de rotâmeros).

HRMS (70 eV, IE): m/z = 451; 419; 392; 346; 318; 284; 244; 210; 121; 91. Massa exata calculada para C₂₂H₂₉NO₉ 451,1842; encontrada 451,1765.

5.17 Obtenção da (4*S*,3*S*,2*R*)-4-(2-metoxifenil)-3-ácido etanóico prolina <u>93</u>.



Metodologia A:

Uma mistura do composto <u>92</u> (50 mg, 0,11 mmol) e HCl 6M (3 mL) foi aquecida por 8h a 80 °C. Após esse tempo a temperatura foi elevada a 110 °C e a mistura reacional foi refluxada por 40 h. Ao final da reação, o HCl foi evaporado e o produto foi purificado por resina de troca iônica Dowex 50x8 (eluição com uma solução de NH₄OH 5%). A solução de NH₄OH foi removida sob vácuo, fornecendo o aminoácido <u>93</u> (23 mg, 0,08 mmol) como um sólido branco em 75% de rendimento e estereosseletividade de 9:1.

Metodologia B:

Uma mistura do composto <u>92</u> (50 mg, 0,11 mmol) e HCl 6M (3 mL) foi refluxada por 3 dias a 110 °C. Ao final da reação, o HCl foi evaporado e o produto foi purificado por resina de troca iônica Dowex 50x8 (eluição com uma solução de NH₄OH 5%). A solução de NH₄OH foi removida sob vácuo, fornecendo o aminoácido <u>93</u> (8 mg, 0,03 mmol) como um sólido branco em 28% de rendimento e estereosseletividade de 2:1.
R*f*: 0,36 (MeOH)

 $[\alpha]^{25}_{D} = -4,5 (c 0,7; H_2O)$

PF: >300 °C

IV (cm⁻¹): 2932; 1724; 1496; 1247; 1025; 757.

RMN ¹**H** (**300 MHz**, **D**₂**O**, δ): 2,22 (ddd, J = 9Hz, J = 6Hz, J = 16,8Hz, 2H); 3,68-3,64 (m, 1H); 3,71 (dd, J = 7,8Hz, J = 11,7Hz, 1H); 3,84 (s, 3H); 3,90 (dd, 1H, sinal sobreposto); 4,15-4,06 (m, 1H); 4,73 (d, J = 7,5Hz, 1H); 6,99 (t, J = 8,4Hz, 2H); 7,16 (d, J = 7,2Hz, 1H); 7,37 (t, J = 7,5Hz, 1H).

RMN ¹³**C (75 MHz, D₂O, δ)**: 31,2; 39,2; 41,7; 46,6; 55,8; 64,2; 111,6; 121,0; 130,1; 157,8; 170,4; 175,1.

HRMS (70 eV, IE): m/z = 279, 256, 242, 213, 185, 149, 129, 97, 83, 69. Massa exata calculada para C₁₄H₁₇NO₅ 279,1107; encontrada 279,1577.

5.18 Obtenção do Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina <u>96</u>.



O composto <u>92</u> (100 mg; 0,22 mmol) foi dissolvido numa mistura THF:LiOH.H₂O 2M (5 mL) e aquecido a 80 °C por 4h. Após o consumo total do material de partida, o solvente foi evaporado e ao bruto foi adicionado HCl 2M até a solução passar a pH 2. Em seguida o HCl foi evaporado e foi adicionado H₂O (2 mL) e aquecido a refluxo por 3h. Após esse tempo a água foi evaporada e o composto foi seco em alto vácuo. O diácido obtido (60 mg) foi dissolvido em metanol (quantidade suficiente para dissolver) e em seguida foi adicionado o CH_2N_2 em excesso (1 mL) sob agitação. Após 30 minutos uma análise por CCD mostrou consumo total do material de partida. O bruto da reação foi purificado por cromatografia *flash* (EtOAc/hexano 1:2), fornecendo <u>**96**</u> (55 mg, 0,15 mmol) em 70% de rendimento, como uma mistura 1:1 com seu epímero em C-2.

Rf: 0,21 (EtOAc/hexano 1:2)

IV (cm⁻¹): 2999; 2954; 2921; 1736; 1703; 1496; 1454; 1389; 1246; 1201; 759. **RMN** ¹**H** (**300 MHz**, **CDCl**₃, **\delta**): 2,30-2,01 (m, 4H); 3,27-3,17 (m, 2H); 4,10-3,50 (vários sinais sobrepostos, 30H); 4,14 (d, J = 5,4Hz; 1H); 4,61 (d, J = 7,2Hz; 1H); 6,93-6,82 (m, 4H); 7,03-6,99 (m, 2H); 7,26-7,13 (m, 2H). (Presença de rotâmeros e do seu epímero em C-2).

RMN ¹³**C** (**75 MHz, CDCl₃, δ**): 30,8; 30,9; 33,1; 37,9; 38,6; 39,0; 39,3; 40,2; 42,1; 43,0; 48,2; 49,0; 49,4; 51,4; 51,5; 51,7; 51,8; 52,3; 52,6; 52,7; 55,1; 55,1; 62,0; 62,5; 63,3; 63,6; 110,0; 110,1; 110,1; 120,3; 120,6; 120,7; 124,9; 125,1; 125,6; 125,9; 127,2; 127,3; 127,9; 128,1; 128,3; 155,3; 155,5; 157,2; 157,4; 170,8; 171,0; 171,9; 172,1; 172,3. (Presença de rotâmeros e do seu epímero em C-2)

HRMS (70 eV, IE): *m*/*z* = 365; 333; 306; 246; 232; 198; 138; 91; 59.

5.19 Obtenção do Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina <u>97</u>.



Ao composto <u>96</u> (55 mg; 0,15 mmol) foi adicionado THF seco (4 mL) sob argônio. A mistura foi resfriada a 0 °C e o KHMDS 0,6M (1,2 mL; 0,75 mmol) foi adicionado aos poucos. A reação foi agitada por 16h a temperatura ambiente e então foi adicionado metanol seco (1 mL). A mistura foi agitada por mais 2h e uma solução de HCl 1N foi adicionada até pH 1. O produto foi extraído com acetato de etila, lavado com H₂O, solução saturada de NaCl e seco com NaSO₄ anidro. O bruto foi então dissolvido em metanol e em seguida foi adicionado CH₂N₂ em excesso e após 15 minutos a reação foi concentrada a vácuo. O bruto da reação foi purificado por cromatografia *flash* (EtOAc/hexano 1:2), fornecendo <u>97</u> (30 mg, 0,08 mmol) em 55% de rendimento.

R*f*: 0,21 (EtOAc/hexano 1:2)

 $[\alpha]_{D} = -40 (c 2, 1; CHCl_{3})$

IV (cm⁻¹): 2995; 2954; 2917; 1736; 1703; 1597; 1495; 1446; 1389; 1250; 1201; 1172; 751.

RMN ¹**H** (**300 MHz, CDCl₃, δ**): 2,10 (ddd, J=6,6Hz; J=6,0Hz; J=14,1Hz, 2H); 3,26-3,15 (m, 1H); 3,6 (s, 3H); 3,71 (s, 3H); 3,77 (s, 3H); 3,79 (s, 3H); 3,82-3,75 (m, 1H); 3,92-3,86 (m, 1H); 4,07-3,96 (m, 1H); 4,14 (d, J=5,4Hz;

1H); 6,93-6,84 (m, 2H); 7,03-6,99 (m, 1H); 7,24-7,21 (m, 1H). (Presença de rotâmeros).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ): 33,2; 38,0; 38,8; 42,2; 43,1; 49,5; 51,7; 52,5; 52,8; 55,2; 63,4; 63,7; 110,3; 120,8; 125,8; 126,1; 127,4; 128,4; 155,0; 157,3; 172,1; 172,2; 172,4; 172,5. (Presença de rotâmeros).

HRMS (70 eV, IE): m/z = 365; 333; 306; 323; 198; 171; 138; 91. Massa exata calculada para C₁₈H₂₃NO₇ 365,1475; encontrada 365,1472.

5.20 Obtenção do Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*R*)-*N*-benziloxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina <u>98</u>.



Uma solução do composto <u>93</u> (20 mg; 0,07 mmol) em NaOH 2N (0,3 mL) foi resfriada em banho de gelo. Em porções, alternadamente, foi adicionado o cloroformato de benzila (14 mg; 0,08 mmol) e NaOH 2N (0,3 mL), o NaOH foi adicionado até solução alcalina. A temperatura da reação foi mantida a 5 °C por 2h. Após esse período o balão da reação foi mergulhado em um banho de água a temperatura ambiente e agitado por mais 30 minutos. A solução alcalina foi extraída com éter e acidificada com HCl 2N até pH 2. A mistura reacional foi concentrada a vácuo e seca em alto vácuo. O bruto da reação foi dissolvido em metanol e CH_2N_2 foi adicionado em acetato de etila, lavado com água, NaCl (sat.), seco em Na₂SO₄ e concentrado a vácuo. O

bruto da reação foi purificado por cromatografia *flash* (EtOAc/hexano 1:2), fornecendo <u>98</u> (15 mg, 0,04 mmol) em 50% de rendimento.

R*f*: 0,34 (EtOAc/hexano 1:2)

 $[\alpha]^{25}_{D} = -19,6 (c 0,6; CHCl_3)$

IV (cm⁻¹): 2954; 2917; 1748; 1707; 1495; 1421; 1197; 1115; 743.

RMN ¹**H** (500 MHz, CDCl₃, δ): 2,04 (dd, J=17,0Hz; J=5,0Hz; 0,5H); 2,08 (dd, J=17,0Hz; J=5,0Hz; 0,5H); 2,21 (dd, J=17,0Hz; J=9,5Hz; 0,5H); 2,24 (dd, J=17,0Hz; J=9,5Hz; 0,5H); 3,44 (s, 3/2H); 3,47 (s, 3H); 3,67-3,50 (m, 1H); 3,68 (s, 3/2H); 3,80 (dd, sinal sobreposto, 1H); 3,81 (s, 3H); 3,99-3,85 (m, 2H); 4,62 (d, J=7,5Hz; 0,5H); 4,65 (d, J=7,5Hz; 0,5H); 5,04 (d, J=12,5Hz, 0,5H); 5,12 (d, J=12,5Hz, 0,5H); 5,21 (d, J=12,5Hz, 0,5H); 5,23 (d, J=12,5Hz, 0,5H); 6,84 (d, J=8,0Hz, 1H); 6,94-6,89 (m, 1H); 7,40-7,12 (m, 7H). (Presença de rotâmeros).

RMN ¹³**C** (**125 MHz, CDCl₃, δ**): 30,9; 31,0; 39,1; 39,5; 40,2; 40,4; 48,3; 48,9; 51,5; 51,7; 52,0; 55,2; 62,3; 62,7; 67,3; 67,4; 110,1; 110,2; 120,3; 120,5; 124,9; 125,1; 128,0; 128,1; 128,2; 128,4; 128,4; 128,5; 136,3; 136,5; 154,6; 155,0; 157,5; 170,8; 171,1; 172,4; 172,5. (Presença de rotâmeros).

HRMS (70 eV, IE): m/z = 441; 416; 382; 338; 306; 246; 186; 134; 91. Massa exata calculada para C₂₄H₂₈NO₇ 441,1788; encontrada 441,1782.

5.21 Obtenção do Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*S*)-*N*-benziloxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina <u>99</u>.



O composto <u>98</u> (8 mg; 0,018 mmol) foi submetido ao mesmo procedimento de epimerização do composto <u>96</u>. O bruto da reação foi purificado por cromatografia *flash* (EtOAc/hexano 1:2), fornecendo <u>99</u> (7 mg, 0,016 mmol) em 88% de rendimento.

Rf: 0,34 (EtOAc/hexano 1:2)

 $[\alpha]_{D} = -38,6 (c 0,7, CHCl_{3})$

IV (cm⁻¹): 3326; 3268; 2946; 1736; 1687; 1622; 1605; 1446; 1401; 1340; 1070; 735.

RMN ¹**H** (**300 MHz, CDCl₃, \delta**): 1,98 (dd, *J*=16,8Hz; *J*=6,9Hz; 1H); 2,13 (dd, *J*=16,8Hz; *J*=7,5Hz; 1H); 3,16-3,10 (m, 1H); 3,59 (s, 3H); 3,60 (s, 3/2H); 3,75 (s, 3/2H); 3,76 (s, 3/2H); 3,80 (s, 3/2H); 3,76-3,97 (m, 3H); 4,05 (d, *J*=5,7Hz; 1/2H); 4,09 (d, *J*=5,7Hz; 0,5H); 5,06 (d, *J*=12,3Hz; 1/2H); 5,15 (d, *J*=12,3Hz; 1/2H); 5,25 (d, *J*=12,3Hz; 1H); 7,04-6,82 (m, 3H); 7,43-7,19 (m, 6H). (Presença de rotâmeros).

RMN ¹³**C** (**75** MHz, CDCl₃, δ): 33,1 (CH₂); 33,2 (CH₂); 38,0 (CH); 38,8 (CH); 42,2 (CH); 43,1 (CH); 49,6 (CH₂); 49,9 (CH₂); 51,6 (CH₃); 52,2 (CH₃); 52,4 (CH₃); 55,1 (CH₃); 63,3 (CH); 63,7 (CH); 67,2 (CH₂); 110,2 (CH); 110,2 (CH); 120,7 (CH); 120,8 (CH); 125,9 (C₀); 126,0 (C₀); 127,3 (CH); 127,4 (CH); 127,9 (CH); 127,9 (CH); 128,0; 128,0; 128,4; 128,5; 136,4 (C₀); 136,6

 (C_0) ; 154,2 (C_0) ; 154,7 (C_0) ; 157,3 (C_0) ; 172,0 (C_0) ; 172,1 (C_0) ; 172,3 (C_0) ; 172,4 (C_0) . (Presença de rotâmeros).

HRMS (70 eV, IE): m/z = 441; 382; 338; 306; 246; 186; 91. Massa exata calculada para C₂₄H₂₈NO₇ 441,1788; encontrada 441,1750.

6 Seção de Espectros

6 SEÇÃO DE ESPECTROS



Espectro 1: Espectro de Infravermelho (pastilha): Ester metílico da (2*S*,4*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-hidroxiprolina <u>53</u>.



Espectro 2: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (2*S*,4*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-



Espectro 3: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (2*S*,4*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-

147



Espectro 4: Espectro de massa de baixa resolução (70 eV): Ester metílico da (2*S*,4*R*)-*N*-metoxicarbonil-4hidroxiprolina <u>53</u>.



Espectro 5: Espectro de Infravermelho (pastilha): Ester metílico da (2*S*,4*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-mesiloxiprolina



Espectro 6: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (2*S*,4*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-mesiloxiprolina <u>54</u>.



Espectro 7: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (2S,4R)-N-metoxicarbonil-4-mesiloxiprolina <u>54</u>.



Espectro 8: Espectro de massa de baixa resolução (70 eV): Ester metílico da (2*S*,4*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-mesiloxiprolina <u>54</u>.



Espectro 9: Espectro de Infravermelho (pastilha): Ester metílico da (2S,4S)-N-metoxicarbonil-4-fenilselenoprolina



Espectro 10: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (2*S*,4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-



Espectro 11: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (2*S*,4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-



Espectro 12: Espectro de massa de baixa resolução (70 eV): Ester metílico da (2S,4S)-N-metoxicarbonil-4-



Espectro 13: Espectro de Infravermelho (filme): Ester metílico da (S)-N-metoxicarbonil-3,4-desidroprolina 50



Espectro 14: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (S)-N-metoxicarbonil-3,4-



Espectro 15: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (S)-N-metoxicarbonil-3,4-



Espectro 16: Espectro de massa de alta resolução (70 eV): Ester metílico da (S)-N-metoxicarbonil-3,4-



Espectro 17: Espectro de Infravermelho (pastilha): (S)-3,4-desidroprolina 56



Espectro 18: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CD₃COH): (S)-3,4-desidroprolina <u>56</u>



Espectro 19: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CD₃COH): (S)-3,4-desidroprolina <u>56</u>



Espectro 20: Espectro de Infravermelho (filme): Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(4-metoxifenil)-2,3desidroprolina <u>60</u>.



Espectro 21: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(4-metoxifenil)-2,3-desidroprolina <u>60</u>.



Espectro 22: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(4-metoxifenil)-2,3-desidroprolina <u>60</u>.



Espectro 23: Espectro de DEPT: Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(4-metoxifenil)-2,3-desidroprolina <u>60</u>.



Espectro 24: Espectro de massa de alta resolução (70 eV): Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(4-metoxifenil)-2,3desidroprolina <u>60</u>.



Espectro 25: Espectro de Infravermelho (filme): Ester metílico da (4S)-N-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-2,3-



Espectro 26: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-2,3-



Espectro 27: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-



Espectro 28: Espectro de massa de alta resolução (70 eV): Ester metílico da (4S)-N-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-2,3-


Espectro 29: Espectro de Infravermelho (filme): Ester metílico da (4S)-N-metoxicarbonil-4-(4-clorofenil)-2,3-

173



Espectro 30: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(4-clorofenil)-2,3-



Espectro 31: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(4-clorofenil)-2,3-



Espectro 32: Espectro de DEPT: Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(4-clorofenil)-2,3-desidroprolina <u>80</u>.



Espectro 33: Espectro de massa de alta resolução (70 eV): Ester metílico da (4S)-N-metoxicarbonil-4-(4-clorofenil)-2,3-

desidroprolina 80.



Espectro 34: Espectro de Infravermelho (filme): Dimetil (4S)-4-(4-fluorofenil)-2-metoxiazolano-1,2-dicarboxilato 78.



Espectro 35: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Dimetil (4S)-4-(4-fluorofenil)-2-metoxiazolano-1,2-



Espectro 36: Espectro de Infravermelho (filme): Dimetil (4S)-2-metoxi-4-(4-nitrofenil)azolano-1,2-dicarboxilato 79.



Espectro 37: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Dimetil (4S)-2-metoxi-4-(4-nitrofenil)azolano-1,2-dicarboxilato



Espectro 38: Espectro de Infravermelho (filme): Ester metílico da (4S)-N-metoxicarbonil-4-fenil-2,3-



Espectro 39: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-fenil-2,3-



Espectro 40: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-fenil-2,3-



Espectro 41: Espectro de massa de alta resolução (70 eV): Ester metílico da (4S)-N-metoxicarbonil-4-fenil-2,3-

desidroprolina 81.



Espectro 42: Espectro de Infravermelho (filme): Ester metílico da (4S,3R,2R)-N-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-



Espectro 43: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*,3*R*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-



Espectro 44: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*,3*R*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-

metoxifenil)-3-dietiloxicarbonilprolina 85.



Espectro 45: Espectro de DEPT: Ester metílico da (4S,3R,2R)-N-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-3-



Espectro 46: Espectro de massa de alta resolução (70 eV): Ester metílico da (4S,3R,2R)-N-metoxicarbonil-4-(2-

metoxifenil)-3-dietiloxicarbonilprolina 85.



Espectro 47: Espectro de Infravermelho (filme): (4S,3R,2R)-4-(2-metoxifenil)-3-ácido etanóico prolina 89.



Espectro 48: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, H₂O): (4*S*,3*R*,2*R*)-4-(2-metoxifenil)-3-ácido etanóico prolina <u>89</u>.



Espectro 49: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, H₂O): (4*S*,3*R*,2*R*)-4-(2-metoxifenil)-3-ácido etanóico prolina <u>89</u>.



Espectro 50: Espectro de massa de alta resolução (70 eV): (4S,3R,2R)-4-(2-metoxifenil)-3-ácido etanóico prolina 89.



Espectro 51: Espectro de Infravermelho (filme): Ester metílico da (4S,2R,3R)-N-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-

3-dietiloxicarbonil fenilselanilprolina <u>90</u>.



Espectro 52: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃ Ester metílico da (4*S*,2*R*,3*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-



Espectro 53: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*,2*R*,3*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-



Espectro 54: Espectro de massa de alta resolução (70 eV): Ester metílico da (4S,2R,3R)-N-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-

3-dietiloxicarbonil fenilselanilprolina <u>90</u>.



Espectro 55: Espectro de Infravermelho (filme): Ester metílico da (4S,2R)-N-metoxicarbonil-3-dietiloxicarbonil-

metileno-4-(2-metoxifenil) prolina 91.



Espectro 56: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-3-dietiloxicarbonil-

metileno-4-(2-metoxifenil) prolina <u>91</u>.



Espectro 57: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-3-dietiloxicarbonil-

metileno-4-(2-metoxifenil) prolina <u>91</u>.



Espectro 58: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-3-

dietiloxicarbonil-metileno-4-(2-metoxifenil) prolina <u>91</u>.



Espectro 59: Espectro de massa de alta resolução (70 eV): Ester metílico da (4*S*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-3-dietiloxicarbonil-

metileno-4-(2-metoxifenil) prolina 91.



Espectro 60: Espectro de Infravermelho (filme): Ester metílico da (4S,3S,2R)-N-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-



Espectro 61: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*,3*S*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-

metoxifenil)-3-dietiloxicarbonilprolina <u>92</u>.



Espectro 62: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (4*S*,3*S*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-

metoxifenil)-3-dietiloxicarbonilprolina <u>92</u>.



Espectro 63: Espectro de DEPT: Ester metílico da (4*S*,3*S*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-3-



Espectro 64: Espectro de massa de alta resolução (70 eV): Ester metílico da (4S,3S,2R)-N-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-

3-dietiloxicarbonilprolina 92.


Espectro 65: Espectro de Infravermelho (filme): (4S,3S,2R)-4-(2-metoxifenil)-3-ácido etanóico prolina 93.



Espectro 66: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, H₂O): (4S,3S,2R)-4-(2-metoxifenil)-3-ácido etanóico prolina <u>93</u>.



Espectro 67: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, H₂O): (4S,3S,2R)-4-(2-metoxifenil)-3-ácido etanóico prolina <u>93</u>.



Espectro 68: Espectro de DEPT: (4S,3S,2R)-4-(2-metoxifenil)-3-ácido etanóico prolina <u>93</u>.



Espectro 69: Espectro de massa de alta resolução (70 eV): (4S,3S,2R)-4-(2-metoxifenil)-3-ácido etanóico prolina 93.



Espectro 70: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Mistura de epímeros em C-2, diácidos <u>94</u> + <u>95</u> (1:1).



Espectro 71: Espectro de Infravermelho (filme): Ester metílico da (3S,4S,2R)-N-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-



Espectro 72: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-



Espectro 73: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*R*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-



Espectro 74: Espectro de massa de alta resolução (70 eV): Ester metílico da (3S,4S,2R)-N-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-

3-metoxicarbonilmetil-prolina_96.



Espectro 75: Espectro de Infravermelho (filme): Ester metílico da (3S,4S,2S)-N-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-



Espectro 76: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-

3-metoxicarbonilmetil-prolina 97.



Espectro 77: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-

metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina 97.



Espectro 78: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*S*)-*N*-metoxicarbonil-4-(2-



Espectro 79: Espectro de DEPT: Ester metílico da (3S,4S,2S)-N-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-



Espectro 80: Espectro de massa de alta resolução (70 eV): Ester metílico da (3S,4S,2S)-N-metoxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-

3-metoxicarbonilmetil-prolina 97.



Espectro 81: Espectro de Infravermelho (filme): Ester metílico da (3S,4S,2R)-N-benziloxicarbonil-4-(2-



Espectro 82: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*R*)-*N*-benziloxicarbonil-4-(2-

metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina <u>98</u>.



Espectro 83: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*R*)-*N*-benziloxicarbonil-4-(2-

metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina $\underline{98}$, composto obtido por Kraus³⁷.



Espectro 84: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*R*)-*N*-benziloxicarbonil-4-(2-

metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina 98.



Espectro 85: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*R*)-*N*-benziloxicarbonil-4-(2-

metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina $\underline{98}$, composto obtido por Kraus³⁷.



Espectro 86: Espectro de massa de alta resolução (70 eV): Ester metílico da (3S,4S,2R)-N-benziloxicarbonil-4-(2-

metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina 98.



Espectro 87: Espectro de Infravermelho (filme): Ester metílico da (3S,4S,2S)-N-benziloxicarbonil-4-(2-

metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina 99.



Espectro 88: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*S*)-*N*-benziloxicarbonil-4-(2-

metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina 99.



Espectro 89: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*S*)-*N*-benziloxicarbonil-4-(2-

metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina $\underline{99}$, composto obtido por Kraus³⁷.



Espectro 90: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*S*)-*N*-benziloxicarbonil-4-(2-

metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina 99.



Espectro 91: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*S*)-*N*-benziloxicarbonil-4-(2-

metoxifenil)-3-metoxicarbonilmetil-prolina $\underline{99}$, composto obtido por Kraus³⁷.



Espectro 92: Espectro de DEPT: Ester metílico da (3S,4S,2S)-N-benziloxicarbonil-4-(2-metoxifenil)-3-



Espectro 93: Espectro de massa de alta resolução (70 eV): Ester metílico da (3*S*,4*S*,2*S*)-*N*-benziloxicarbonil-4-(2-

7 Apêndice

7 APÊNDICE

7 Apêndice

7 APÊNDICE

2005年 11月 11日 (金) 12:39

件名: Re: dados sobre acromelatos 送信日時: 2005年 11月 11日 金曜日 11:42 差出人: Katsuhiro Konno <kk-gon@butantan.gov.br> 宛先:"Carlos Roque D. Correia" <roque@iqm.unicamp.br>

Deaer Prfo. Carlos Roque,

Now I have the data that you really need. The optical rotation value of dimethyl-Cbz-MFPA is as the following:

-36.6 (c1.00, CHC13) , at 20 $^\circ$ C

So, you can forget all the previous data that I have sent to you. I hope this is consistent with your own data.

Best regards,

Konno

> Dear Dr. Konno,

> We prepared the dimethyl-Cbz-MFPA because spectroscopic data was available

> for it in the literature, but only for the racemic compound. Since we

> prepared the optically active compound, the optical rotation would confirm > our absolute stereochemical assignments. That's why we are so interested in > it.

> If Prof. Kimiko has the optical rotation for the dimethyl-Cbz-MFPA, it

> would be REALLY GREAT.

> Would you mind asking her for that?

> Warmest regards,

> Carlos Roque

Katsuhiro Konno, 20:01 10/11/2005 , Re: dados sobre acromelatos

X-From : kk-gon@butantan.gov.br Thu Nov 10 19:57:13 2005 Return-Path: <kk-gon@butantan.gov.br> Delivered-To: roque@igm.unicamp.br Delivered-To: roque@igm.unicamp.br User-Agent: Microsoft-Entourage/11.0.0.040405 Date: Thu, 10 Nov 2005 20:01:28 -0200 Subject: Re: dados sobre acromelatos From: Katsuhiro Konno <kk-gon@butantan.gov.br> To: "Carlos Roque D. Correia" <roque@igm.unicamp.br> X-Virus-Scanned: by amavisd-new-20030616-p10 (Debian) at butantan.gov.br X-Virus-Scanned: amavisd-new at igm.unicamp.br

Dear Prof. Carlos Roque,

OK! I will ask her right away.

Best regards,

Konno

> Dear Dr. Konno, > YES, that is the one we are looking for. > We prepared the dimethyl-Cbz-MFPA because spectroscopic data was available > for it in the literature, but only for the racemic compound. Since we > prepared the optically active compound, the optical rotation would confirm > our absolute stereochemical assignments. That's why we are so interested in > it. > If Prof. Kimiko has the optical rotation for the dimethyl-Cbz-MFPA, it > would be REALLY GREAT. > Would you mind asking her for that? > Warmest regards,

> Carlos Roque

Printed for Carlos Roque Duarte Correia <roque@iqm.unicamp.b...

Katsuhiro Konno, 19:28 10/11/2005 , Re: dados sobre acromelatos

X-From_: kk-gon@butantan.gov.br Thu Nov 10 19:24:36 2005 Return-Path: <kk-gon@butantan.gov.br> Delivered-To: roque@pcserver.iqm.unicamp.br Delivered-To: roque@iqm.unicamp.br User-Agent: Microsoft-Entourage/11.0.0.040405 Date: Thu, 10 Nov 2005 19:28:51 -0200 Subject: Re: dados sobre acromelatos From: Katsuhiro Konno <kk-gon@butantan.gov.br> To: "Carlos Roque D. Correia" <roque@iqm.unicamp.br> X-Virus-Scanned: by amavisd-new-20030616-p10 (Debian) at butantan.gov.br X-Virus-Scanned: amavisd-new at iqm.unicamp.br

Dear Carlos Roque,

The optical rotation data you want is that of dimethyl-Cbz-MFPA? If so, I will ask her for it. I think she should have it (again maybe only in her Ph.D. thesis).

Best regards,

Konno

> Dear Dr. Konno, > Thank you one more time for the pdf. It looks perfect. > It is a pitty that the optical rotation for the dimethyl-Cbz-MFPA is not

> available. We somehow overlooked the data in the literature, and we were so > confident about the availability of such information that we didn't worried

> about preparing the free aminoacid MFPA (what does it really stand for?).
> Well, we are preparing more of the dimethyl-Cbz-MFPA and we should then
> used Prof. Kimiko's hydrolytic conditions to obtain the free aminoacid and > compare optical rotations. Hopefully we should get the same results she

> reported.
> I'll informe you of any news as soon as we get it.

> Warmest regards, > Carlos Roque

Printed for Carlos Roque Duarte Correia <roque@iqm.unicamp.b...