



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



1150055290



T/UNICAMP L934s

# SÍNTESE ENANTIOSSELETIVA DE EFEDRINA

*Dissertação de Mestrado*

**Emerson Lourenço**

Orientador: Prof. Dr. Paulo José Samenho Moran

Campinas, 02 de abril de 2003

i

2003-07-192

UNIDADE	I 16
Nº CHAMADA	UNIFOP L934s
V	EX
TOMEG. BCI	55290
PROC.	16-124103
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	15/08/03
Nº CPD	

CM00108614-0

BIBID 300661

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

L934s	<p>Lourenço, Emerson Síntese enantiosseletiva de efedrina / Emerson Lourenço. -- Campinas, SP: [s.n], 2003.</p> <p>Orientador: Paulo José Samenho Moran</p> <p>Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.</p> <p>1. Biotransformação. 2. Efedrina. 3. Fermento de pão. I. Moran, Paulo José Samenho. II. Universidade Estadual de Campinas. III. Título.</p>
-------	---

*Dedico este trabalho aos meus pais,  
Pedro e Maria.*

## **AGRADECIMENTOS**

- Aos meus pais, por tudo;
- Ao Prof. Dr. Paulo José Samenho Moran, pela orientação e amizade;
- Ao Prof. Dr. José Augusto Rosário Rodrigues e à Prof. Dr. Anita Jocelyne Marsaioli;
- Ao Instituto de Química da UNICAMP;
- Aos meus amigos;
- Aos meus colegas de laboratório, pela convivência no cotidiano;
- Ao Rogério e a Valquiria, por não medirem esforços;
- À FAPESP e ao CNPq, pelo suporte financeiro;
- A todos que contribuíram, de uma forma ou de outra, para a execução deste trabalho;

## RESUMO

Neste trabalho, foram estudadas algumas metodologias de redução enantiosseletiva da dicetona pró-quiral 1-fenil-1,2-propanodiona (**3**) por fermento de pão (*Saccharomyces cerevisiae*). Esta dicetona foi sintetizada a partir da  $\alpha$ -oximação da propiofenona (**7**) (68-80%), seguido da hidrólise da (2*E*)-1-fenil-1,2-propanodiona 2-oxima (**8**) (62-77%). O grande interesse na redução microbiológica de **3** é a possibilidade de obtenção de (*R*)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (**4**), pois (*R*)-**4** pode sofrer uma aminação redutiva produzindo diretamente aminoálcoois com alto e.e., como a efedrina. Assim, a obtenção de (*R*)-**4** com 21% de rendimento e 96% de e.e. foi possível através de uma condição reacional de redução com utilização de borbulhamento de nitrogênio e oxigênio. Outros dois produtos podem ser obtidos na redução microbiológica de **3** utilizando-se diferentes condições; (*S*)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (**5**) (45-68% e e.e. 96%) e (1*R*,2*S*)-1-fenil-1,2-propanodiol (**6**) (74-97% de rendimento, e.e. >99%). A partir da obtenção de (*R*)-**4**, (*S*)-**5** e (1*R*,2*S*)-**6**, algumas rotas foram investigadas com interesse na obtenção de aminoálcoois opticamente ativos a partir destes compostos.

## ABSTRACT

In this work, some methodologies for enantioselective reduction of the prochiral diketone 1-phenyl-1,2-propanedione (**3**) mediated by Baker's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) had been studied. This diketone was synthesized by  $\alpha$ -oxymation of propiophenone (**7**) (68-80%), followed by acidic hydrolysis of (2*E*)-1-phenyl-1,2-propanodione 2-oxime (**8**) (62-77%). The great interest on microbial reduction of **3** is to access (*R*)-1-hydroxy-1-phenyl-2-propanone (**4**), because (*R*)-**4** can undergo a reductive amination producing aminoalcohols in high e.e. Thus, (*R*)-**4** was obtained, 21% of isolated yield and 96% e.e., using a nitrogen/oxygen bubbling reduction condition of **3**. Other two compounds were obtained from **3**, under different conditions; (*S*)-2-hydroxy-1-phenyl-1-propanone (**5**) (45-68%; 96% e.e.) and (1*R*,2*S*)-1-phenyl-1,2-propanediol (**6**) (74-97%; >99% e.e.). Some routes were developed in order to obtain chiral aminoalcohols from these compounds.

## **CURRICULUM VITAE**

NOME: Emerson Lourenço

NASCIMENTO: 09 de julho de 1978

NACIONALIDADE: Brasileiro

NATURALIDADE: Atibaia, SP

### **ESCOLARIDADE**

#### **GRADUAÇÃO**

Bacharelado em Química, Universidade Estadual de Campinas

27 de Fevereiro de 1997 a 17 de Janeiro de 2001

### **BOLSAS**

BOLSA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – PIBIC/CNPq

VIGÊNCIA: 01 de Setembro de 1999 a 31 de Julho de 2000

LOCAL: Instituto de Química da UNICAMP

BOLSA DE MESTRADO – CNPq

VIGÊNCIA: 01 de Março de 2001 a 31 de Maio de 2001

LOCAL: Instituto de Química da UNICAMP

BOLSA DE MESTRADO – FAPESP

VIGÊNCIA: 01 de Junho de 2001 a 28 de Fevereiro de 2003

LOCAL: Instituto de Química da UNICAMP

## CONGRESSOS

- **“Efeito da ausência de oxigênio na redução enantiosseletiva de 1-fenil-1,2-propanodiona.”** Emerson Lourenço, José A. R. Rodrigues e Paulo J. S. Moran  
Workshop: Biocatálise em Química Orgânica – USP, SP – 18 a 22 de Fevereiro de 2002;
- **“Obtenção seletiva de (R)-(-)-1-fenil-1-hidroxi-propanona via redução microbiológica de 1-fenil-1,2-propanodiona.”** Emerson Lourenço, José A. R. Rodrigues e Paulo J. S. Moran. 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – Poços de Caldas, MG – 20 a 23 de Maio de 2002.

## ABREVIações, SÍMBOLOS E UNIDADES

- BY - "Baker's Yeast" (fermento de pão)
- recLb*-ADH - Álcool Desidrogenase Recombinante *Lactobacillus brevis*
- Th. sp.*-ADH - Álcool Desidrogenase Termofílica *Thermoanaerobium species*
- $[\alpha]_D^{20}$  - Ângulo de desvio ótico à 20°C com lâmpada de Na 589 nm
- BAL - Benzaldeído Liase
- BFD - Benzoilformato Liase
- c - Concentração (g/ 100 mL)
- J - Constante de acoplamento
- CCD - Cromatografia em Camada Delgada
- CCDP - Cromatografia em Camada Delgada Preparativa
- CC - Cromatografia em Coluna
- CG - Cromatografia Gasosa
- CG-EM - Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
- $\delta$  - Deslocamento Químico
- d - Duplete
- eV - elétron-Volt
- EM - Espectrometria de Massas
- e.e. - Excesso Enantiomérico
- Ph - Fenil
- Hz - Hertz
- IV - Infra Vermelho.
- L - Litros
- MHz - Mega Hertz
- MVK - Metil Vinil Ketone (metil vinil cetona)
- $\mu$ L - Microlitro
- $\mu$ m - Micrometro
- mg - Miligramas
- mL - Mililitros
- m - Multiplete
- Pd/C - Paládio sobre Carvão
- p.f. - Ponto de Fusão
- pH - Potencial Hidrogeniônico
- q - Quarteto
- m/z* - Razão massa/carga
- RMN de  $^{13}\text{C}$  - Ressonância Magnética de Carbono-13
- RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 135 - Ressonância Magnética de Carbono-13: Técnica DEPT 135
- RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 90 - Ressonância Magnética de Carbono-13: Técnica DEPT 90
- RMN de  $^1\text{H}$  - Ressonância Magnética de Hidrogênio
- s - Singleto
- t - Tripleto

## ÍNDICE

<b>1 – INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1 – Considerações Gerais.....	1
1.2 – Utilização de Biocatalisadores: Vantagens e Desvantagens.....	1
1.3 – Propriedades Enzimáticas e Aspectos Mecanísticos.....	5
1.4 – Efedrina e Aminoálcoois Quirais.....	8
1.5 – Reduções Microbiológicas.....	10
1.5.1 – Regra de Prelog.....	11
1.5.2 – Reduções Microbiológicas Utilizando Células Íntegras.....	11
1.5.3 – Reduções Microbiológicas Mediadas por <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	13
<b>2 – OBJETIVOS E ESTRATÉGIA.....</b>	<b>19</b>
2.1 – Objetivos.....	19
2.2 – Estratégia.....	19
<b>3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>21</b>
3.1 – Síntese de ( <i>E</i> )-1-fenil-1,2-propanodiona 2-oxima ( <b>8</b> ).....	21
3.2 – Síntese de 1-fenil-1,2-propanodiona ( <b>3</b> ).....	22
3.3 – Reduções microbiológicas de <b>3</b> .....	23
3.3.1 - Estudo para obtenção seletiva de ( <i>R</i> )-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona ( <b>4</b> ) através da biorredução de <b>3</b> .....	24
3.3.2 - Condensação aciloínica de Benzaldeído e Ácido Pirúvico.....	26
3.3.3 - Obtenção de ( <i>R</i> )-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona ( <b>4</b> ).....	27
3.3.4 - Obtenção de ( <i>S</i> )-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona ( <b>5</b> ).....	29
3.3.5 - Obtenção de (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> )-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol ( <b>6</b> ).....	30
3.3.6 - Estudo cinético da redução enantiosseletiva de <b>3</b> , ( <i>R</i> )- <b>4</b> e ( <i>S</i> )- <b>5</b> através do acompanhamento da evolução das reações.....	31
3.3.7 - Estudo do efeito do açúcar na seletividade da redução de <b>3</b> .....	37
3.3.8 - Estudo do efeito da utilização da resina XAD-7 na seletividade e no rendimento da redução microbiológica de <b>3</b> .....	38
3.3.9 - Estudo cinético da redução enantiosseletiva de <b>3</b> , utilizando-se atmosfera inerte e açúcar.....	38
3.4 – Síntese do cloridrato de efedrina ( <b>2</b> ).....	39
3.5 – Síntese de (2 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )- e (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-4-fenil-5-metil-1,3,2-dioxatolano-2-óxido ( <b>11</b> ).....	40
3.6 – Síntese de 4-fenil-5-metil-1,3,2-dioxatolano-2,2-dióxido ( <b>12</b> ).....	41
3.7 – Síntese de ( <i>R</i> )-2-cloro-1-fenil-1-propanona ( <b>9</b> ).....	42

<b>4 – CONCLUSÕES.....</b>	<b>44</b>
<b>5 – PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>46</b>
5.1 – Informações Gerais.....	46
5.2 – Síntese da ( <i>E</i> )-1-fenil-1,2-propanodiona 2-oxima (8).....	51
5.3 – Síntese da 1-fenil-1,2-propanodiona (3).....	52
5.4 – Síntese do 1-fenil-1,1,2,2-bis-(etilenodioxí)-propano.....	53
5.5 – Síntese do (2 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )- e (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-4-fenil-5-metil-1,3,2-dioxatolano-2-óxido (11).....	54
5.6 – Síntese do 4-fenil-5-metil-1,3,2-dioxatolano-2,2-dióxido (12).....	55
5.6.1 – Procedimento 1.....	55
5.6.2 – Procedimento 2.....	56
5.6.3 – Procedimento 3.....	56
5.6.4 – Procedimento 4.....	56
5.6.5 – Procedimento 5.....	57
5.7 – Síntese do cloridrato de efedrina (2).....	57
5.8 – Síntese de ( <i>R</i> )-2-cloro-1-fenil-1-propanona (9).....	58
5.8.1 – Procedimento 1.....	58
5.8.2 – Procedimento 2.....	59
5.8.3 – Procedimento 3.....	59
5.9 – Reduções Microbiológicas.....	60
5.9.1 – Reduções microbiológicas de 3.....	60
5.9.1.1 – Procedimento 1: Redução com fermento de pão ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) em meio aquoso .....	60
5.9.1.2 – Procedimento 2: Redução com fermento de pão em solventes orgânicos.....	61
5.9.1.3 – Estudo para obtenção seletiva da ( <i>R</i> )-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (4) através da biorredução de 3.....	61
5.9.1.4 – Procedimento 3: Condensação aciloínica de Benzaldeído e Ácido Pirúvico.....	62
5.9.1.5 – Estudo cinético da redução enantiosseletiva de 1-fenil-1,2-propanodiona (3), ( <i>R</i> )-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (4) e ( <i>S</i> )-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (5) através do acompanhamento da evolução das reações.....	63
5.9.1.6 – Estudo do efeito do açúcar na seletividade da redução microbiológica de 3.....	65
5.9.1.7 – Estudo do efeito da utilização da resina XAD-7 na seletividade e no rendimento da redução microbiológica de 3.....	66

5.9.1.8 – Estudo cinético da redução enantiosseletiva de <b>3</b> , utilizando-se atmosfera inerte e açúcar.....	66
5.9.2 – Obtenção da ( <i>R</i> )-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona ( <b>4</b> ).....	67
5.9.3 – Obtenção de ( <i>S</i> )-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona ( <b>5</b> ).....	68
5.9.4 – Obtenção de (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> )-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol ( <b>6</b> ).....	69
<b>6 – ESPECTROS</b> .....	<b>71</b>
<b>Espectro 1:</b> IV da ( <i>E</i> )-1-fenil-1,2-propanodiona 2-oxima ( <b>8</b> ).....	71
<b>Espectro 2:</b> EM da ( <i>E</i> )-1-fenil-1,2-propanodiona 2-oxima ( <b>8</b> ).....	71
<b>Espectro 3:</b> RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da ( <i>E</i> )-1-fenil-1,2-propanodiona 2-oxima ( <b>8</b> ).....	72
<b>Espectro 4:</b> RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da ( <i>E</i> )-1-fenil-1,2-propanodiona 2-oxima ( <b>8</b> ).....	72
<b>Espectro 5:</b> RMN <sup>13</sup> C DEPT 90 e 135 (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da ( <i>E</i> )-1-fenil-1,2-propanodiona 2-oxima ( <b>8</b> )..	73
<b>Espectro 6:</b> IV da 1-fenil-1,2-propanodiona ( <b>3</b> ).....	73
<b>Espectro 7:</b> EM da 1-fenil-1,2-propanodiona ( <b>3</b> ).....	74
<b>Espectro 8:</b> RMN <sup>1</sup> H (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da 1-fenil-1,2-propanodiona ( <b>3</b> ).....	74
<b>Espectro 9:</b> RMN <sup>13</sup> C (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da 1-fenil-1,2-propanodiona ( <b>3</b> ).....	75
<b>Espectro 10:</b> RMN <sup>13</sup> C DEPT 90 e 135 (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da 1-fenil-1,2-propanodiona ( <b>3</b> ).....	75
<b>Espectro 11:</b> IV do 1-fenil-1,1,2,2-bis-(etilenodioxo)-propano.....	76
<b>Espectro 12:</b> EM do 1-fenil-1,1,2,2-bis-(etilenodioxo)-propano.....	76
<b>Espectro 13:</b> RMN <sup>1</sup> H (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do 1-fenil-1,1,2,2-bis-(etilenodioxo)-propano.....	77
<b>Espectro 14:</b> IV de (2 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )- e (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-4-fenil-5-metil-1,3,2-dioxatolano-2-óxido ( <b>11</b> ).....	77
<b>Espectro 15:</b> EM do (2 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )- e (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-4-fenil-5-metil-1,3,2-dioxatolano-2-óxido ( <b>11</b> ).....	78
<b>Espectro 16:</b> RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (2 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )- e (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-4-fenil-5-metil-1,3,2-dioxatolano-2-óxido ( <b>11</b> ).....	78
<b>Espectro 17:</b> RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (2 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )- e (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-4-fenil-5-metil-1,3,2-dioxatolano-2-óxido ( <b>11</b> ).....	79
<b>Espectro 18:</b> RMN <sup>13</sup> C DEPT 90 e 135 (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do (2 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )- e (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-4-fenil-5-metil-1,3,2-dioxatolano-2-óxido ( <b>11</b> ).....	79
<b>Espectro 19:</b> IV do cloridrato de efedrina ( <b>2</b> ).....	80
<b>Espectro 20:</b> RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, D <sub>2</sub> O) do cloridrato de efedrina ( <b>2</b> ).....	80
<b>Espectro 21:</b> RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, D <sub>2</sub> O) do cloridrato de efedrina ( <b>2</b> ).....	81
<b>Espectro 22:</b> RMN <sup>13</sup> C DEPT 90 e 135 (75 MHz, D <sub>2</sub> O) do cloridrato de efedrina ( <b>2</b> ).....	81
<b>Espectro 23:</b> IV da ( <i>R</i> )-2-cloro-1-fenil-1-propanona ( <b>9</b> ).....	82
<b>Espectro 24:</b> EM da ( <i>R</i> )-2-cloro-1-fenil-1-propanona ( <b>9</b> ).....	82
<b>Espectro 25:</b> RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da ( <i>R</i> )-2-cloro-1-fenil-1-propanona ( <b>9</b> ).....	83
<b>Espectro 26:</b> RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da ( <i>R</i> )-2-cloro-1-fenil-1-propanona ( <b>9</b> ).....	83

<b>Espectro 27:</b> RMN <sup>13</sup> C DEPT 90 e 135 (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da ( <i>R</i> )-2-cloro-1-fenil-1-propanona (9)..	<b>84</b>
<b>Espectro 28:</b> IV da ( <i>R</i> )-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (4).....	<b>84</b>
<b>Espectro 29:</b> EM da ( <i>R</i> )-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (4).....	<b>85</b>
<b>Espectro 30:</b> RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da ( <i>R</i> )-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (4).....	<b>85</b>
<b>Espectro 31:</b> RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da ( <i>R</i> )-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (4).....	<b>86</b>
<b>Espectro 32:</b> RMN <sup>13</sup> C DEPT 90 e 135 (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da ( <i>R</i> )-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (4)..	<b>86</b>
<b>Espectro 33:</b> IV da ( <i>S</i> )-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (5).....	<b>87</b>
<b>Espectro 34:</b> EM da ( <i>S</i> )-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (5).....	<b>87</b>
<b>Espectro 35:</b> RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da ( <i>S</i> )-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (5).....	<b>88</b>
<b>Espectro 36:</b> RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, D <sub>2</sub> O/CDCl <sub>3</sub> ) da ( <i>S</i> )-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (5).....	<b>88</b>
<b>Espectro 37:</b> RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) ( <i>S</i> )-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (5).....	<b>89</b>
<b>Espectro 38:</b> RMN <sup>13</sup> C DEPT 90 e 135 (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da ( <i>S</i> )-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (5)..	<b>89</b>
<b>Espectro 39:</b> IV do (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> )-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (6).....	<b>90</b>
<b>Espectro 40:</b> EM do (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> )-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (6).....	<b>90</b>
<b>Espectro 41:</b> RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> )-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (6).....	<b>91</b>
<b>Espectro 42:</b> RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> )-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (6).....	<b>91</b>
<b>Espectro 43:</b> RMN <sup>13</sup> C DEPT 90 e 135 (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> )-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (6)....	<b>92</b>

---

# 1- INTRODUÇÃO

---

## 1.1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

As oxidoreduzase do *Saccharomyces cerevisiae* são um dos biocatalisadores mais versáteis e de menor custo, pois este microrganismo é de fácil manuseio e não requer nenhum cuidado especial, nem a necessidade de adição de cofatores que já estão disponíveis nas células.<sup>1a</sup>

A redução enantiosseletiva de compostos carbonílicos por microrganismos constitui-se numa das maiores aplicações de biocatálise em síntese orgânica. Este tipo de redução foi, originariamente, descrito em 1918 para a redução do furfural para álcool furfurílico.<sup>2</sup>

As grandes metas da utilização de biotransformações podem ser consideradas: conversão seletiva de grupos funcionais a outros grupos, introdução de centros quirais, e funcionalização de carbonos não reativos. Aplicações no setor energético, além da utilização em áreas de poluição ambiental também são de grande interesse.<sup>2</sup>

## 1.2 – UTILIZAÇÃO DE BIOCATALISADORES: VANTAGENS E DESVANTAGENS

As células apresentam um grande número de enzimas, várias podendo atuar ao mesmo tempo acarretando uma possível perda na seletividade. No entanto,

---

<sup>1</sup> a) Rodrigues, J.A.R.; Moran, P.J.S. *Quím. Nova* 2001, 24, 893-897; b) Moran, P.J.S.; Rodrigues, J.A.R.; Joekes, I.; Brenelli, E.C.S.; Leite, R.A. *Biocatalysis* 1994, 9, 321-328; c) Sorilha, A.E.P.M.; Marques, M.; Joekes, I.; Moran, P.J.S.; Rodrigues, J.A.R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1992, 2, 191-196;

<sup>2</sup> Csuk, R.; Glänzer, B. I. *Chem. Rev.* 1991, 91, 49;

---

modificações podem ser realizadas nas condições experimentais, influenciando assim, a atividade do microrganismo.

As enzimas formam produtos seletivamente, esta característica é muito útil nos processos industriais, por que se formam quantidades mínimas de produtos secundários, eliminando a necessidade de separação de subprodutos e, conseqüentemente, ocorre a redução dos efluentes industriais.

Os biocatalisadores (enzimas) apresentam as seguintes vantagens:

- São catalisadores muito eficientes: processos mediados por enzimas são mais acelerados quando comparados com processos não enzimáticos e processos catalisados quimicamente. Portanto, a maioria dos processos enzimáticos é realizado em baixíssimas concentrações do catalisador;
- São ambientalmente corretos: diferentemente dos metais pesados utilizados na catálise química, os biocatalisadores são completamente biodegradáveis;
- Reações ocorrem em condições brandas: porque atuam no metabolismo de células vivas, as enzimas agem à pressão atmosférica, temperatura próxima a ambiente e pH próximo a neutro;
- São compatíveis entre si: algumas enzimas normalmente atuam em condições similares;
- Aceitam substratos não naturais: exibem larga tolerância a substratos não naturais e, freqüentemente, as reações são realizadas em meio não aquoso, quando vantajoso para o processo, o meio aquoso pode ser trocado por solvente orgânico;

- 
- Podem catalisar uma larga faixa de reações: hidrólises, reações de oxidação-redução, adição-eliminação de água, halogenação e desalogenação, entre outras;
  - Apresentam os principais tipos de seletividade:
    - ✓ *Quimiosseletividade*: desde que a proposta de uma enzima é agir sobre um único tipo de grupo funcional, outras funções sensíveis que normalmente reagiriam sobre condições de catálise química, permanecem inalteradas ao processo enzimático;
    - ✓ *Regiosseletividade e diastereosseletividade*: devido à sua estrutura tridimensional, enzimas podem fazer distinção entre grupos funcionais que estão quimicamente situados em diferentes regiões da mesma molécula do substrato;
    - ✓ *Enantiosseletividade*: quase todas as enzimas são formadas de L-aminoácidos, como consequência, qualquer tipo de quiralidade presente no substrato é reconhecido durante a formação do complexo substrato-enzima, então um substrato pró-quiral é transformado em um produto com atividade ótica

Algumas desvantagens da utilização de biocatalisadores são:

- Enzimas puras e isoladas são caras, mas dependendo da eficiência do processo, a utilização de enzimas é preferível.
- Enzimas são fornecidas pela natureza somente em uma forma enantiomérica: não há como criar as imagens especulares das enzimas a partir de D-aminoácidos, é impossível inverter a indução quiral de uma reação enzimática simplesmente pela utilização do "outro enantiômero" do biocatalisador, estratégia

---

possível quando se utilizam catalisadores químicos quirais. Neste caso, deve-se buscar outro catalisador enzimático que possua estereosseletividade inversa;

- Exigem parâmetros de operação específicos: a óbvia vantagem das enzimas agirem sob condições brandas pode se tornar um problema, se as reações biocatalisadas ocorrerem lentamente nas condições naturais de temperatura e pH. A maioria das proteínas são desativadas quando submetidas a altas temperaturas bem como valores extremos de pH e altas concentrações salinas. A alternativa de diminuir a temperatura de reação, para se ganhar um aumento na seletividade, também pode limitar a transformação enzimática;
- Apresentam sua atividade catalítica máxima em meio aquoso: a maioria dos compostos orgânicos é pouco solúvel ou insolúvel em água, então, às vezes, é necessário trocar as reações enzimáticas aquosas para o meio orgânico, porém pode ocorrer a perda de atividade enzimática;
- Algumas classes de enzimas são limitadas pelos seus cofatores: embora enzimas sejam extremamente flexíveis a aceitar substratos não-naturais, algumas classes são limitadas pelos seus cofatores que servem como transportadores de equivalentes redox, como NAD(P)H, ou energia química (ATP). A maioria destes reagentes biológicos são moléculas relativamente instáveis e são proibitivamente caras para serem utilizadas em quantidades estequiométricas;
- São passíveis de sofrer inibição pelo substrato: muitas reações enzimáticas são passíveis à inibição pelo substrato ou pelo produto, que leva a enzima a parar de

---

trabalhar a altas concentrações de substrato e/ou produto, fator limitante a eficiência do processo;

Estas desvantagens foram bastante amenizadas nos últimos anos pelo aperfeiçoamento e desenvolvimento de diversas técnicas de reações catalisadas por microrganismos. Algumas modificações mais comuns são o uso de solventes orgânicos, adição de inibidores e técnicas de imobilização.<sup>3</sup>

### 1.3 – PROPRIEDADES ENZIMÁTICAS E ASPECTOS MECANÍSTICOS

A estrutura peptídica de uma enzima permanece em uma estrutura tridimensional, que possui o menor  $\Delta G$  que é determinado, predominantemente, pela sua seqüência primária. Devido ao seu ambiente aquoso, os grupos polares hidrofílicos se localizam na superfície mais externa da enzima, a fim de permanecer hidratados, e os substituintes lipofílicos escondidos na parte interna, como conseqüência à enzima é recoberta por uma camada de água que não pode ser removida por liofilização. Esta água residual (em torno de 5-10% do peso total da enzima liofilizada), está firmemente ligada à superfície da enzima por pontes de hidrogênio, é chamada de água estrutural, responsável pela manutenção da estrutura tridimensional da enzima e, então, pela sua atividade.

As enzimas são intrinsecamente instáveis em solução e podem ser desativadas por denaturação, causada pelo aumento da temperatura, pH externo ou um ambiente dielétrico desfavorável. Alguns tipos de reações que levam à desativação da enzima estão listados a seguir:

---

<sup>3</sup> Faber, K. *Biotransformations in Organic Chemistry*, 4ª ed., Springer, Nova Iorque, 2000;

- Rearranjo das cadeias peptídicas: começam entre 40-50°C, muitos desses rearranjos são reversíveis e inofensivos à enzima;
- Hidrólise das ligações peptídicas das cadeias: os grupos aminoácidos podem ser hidrolisados, e afim de se tornar hidratados estes novos grupos formados (-COO<sup>-</sup>) migram para a superfície da enzima causando um rearranjo na estrutura da enzima;
- Os grupos tióis podem se converterem para pontes dissulfeto (-S-S-), levando a uma modificação na estrutura da proteína;
- Reações de eliminação e oxidação causam a destruição da proteína;

Entre numerosas teorias e racionalizações de ação enzimática desenvolvidas, os modelos mais ilustrativos para os químicos orgânicos são:

- *Mecanismo "chave-fechadura"*: primeira proposta para um mecanismo geral de ação enzimática, desenvolvida por Fischer em 1894, assume que uma enzima e seu substrato interagem como uma fechadura e uma chave, respectivamente, esta teoria assume que a estrutura da enzima é completamente rígida. Sendo assim, em certos casos, esta teoria não explica porque substratos grandes interagem com enzimas em velocidades maiores que substratos pequenos, devido ao difícil acesso dos substratos grandes aos sítios ativos da enzima, os substratos pequenos teriam maior facilidade de interagir com o centro ativo;
- *Mecanismo de ajuste induzido*: esta racionalização, apresentada por Koshland no fim da década de 60, leva em conta que a enzima não é inteiramente rígida, apresentando uma estrutura delicada e sensível. Esta teoria assume que a

---

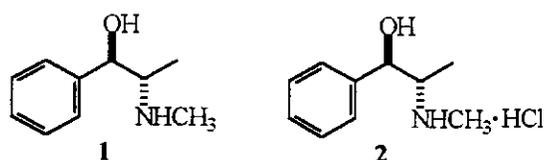
enzima pode mudar a sua conformação sob a influência da estrutura do substrato para se acomodar ao mesmo, durante a formação do complexo enzima-substrato. A teoria do ajuste induzido pode explicar como substratos com diferentes características estruturais podem ser convertidos pelas enzimas. As enzimas mais típicas de ataque induzido são as lipases;

- *Teoria da dessolvatação*: desenvolvida recentemente por Dewar, na tentativa de explicar as altas velocidades de conversão das reações enzimáticas que são mais rápidas que os processos equivalentes catalisados quimicamente. A teoria da dessolvatação assume que a cinética das reações enzimáticas tem muito em comum com as reações na fase gasosa. Quando o substrato entra no sítio ativo, substitui todas as moléculas de água que o solvatam pelo sítio ativo da enzima, ocorrendo uma reação sem a presença do solvente semelhante a uma reação em fase gasosa. Esta teoria explica porque substratos pequenos (mais solvatados) são freqüentemente convertidos mais lentamente que seus análogos maiores;
- *Regra do ataque em três pontos*: a racionalização mais utilizada para a explicação da estereosseletividade das enzimas foi sugerida por Ongston. Desde que a quiralidade é uma propriedade espacial, um substrato deve estar firmemente posicionado em três dimensões para adquirir um alto nível de estereosseletividade. Como consequência, deve haver pelo menos três diferentes pontos de ligação do substrato ao sítio ativo da enzima.<sup>3</sup>

## 1.4 – EFEDRINA E OS AMINOÁLCOOIS QUIRAIS

Devido à grande importância dos derivados de 1,2-aminoálcoois óticamente puros como drogas quimioterapêuticas, auxiliares quirais e blocos construtores quirais em síntese orgânica, a síntese estereosseletiva destes compostos tem se tornado o objetivo de muitos grupos de pesquisas.<sup>4,5</sup> Grandes esforços foram gastos nas últimas décadas para encontrar rotas alternativas para síntese enantiosseletiva de efedrina (1) e seus análogos, durante este período vários métodos foram investigados.<sup>6</sup>

O hidrocloreto de L-efedrina (2), um medicamento tradicional, obtido de extratos de plantas medicinais pertencentes ao gênero *Ephedra*, tem sido usado por milhares de anos como remédio de populares na China para induzir transpiração, suavizar a respiração e facilitar a excreção de urina. A efedrina foi, primeiramente, isolada em 1855, e o interesse internacional nessa droga foi estimulado pelas investigações clássicas da Chem & Schmidt em 1930, que publicou seus efeitos cardiovasculares e suas semelhanças com epinefrina.<sup>6</sup>



A efedrina é uma droga que possui atividades agonistas  $\alpha$ - e  $\beta$ -adrenérgicas, atuando no sistema nervoso simpático e é um ingrediente de vários produtos

<sup>4</sup> Ager, D.J.; Prakash, I.; Schaad, D.R. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 835;

<sup>5</sup> a) Kreutz, O.C.; Moran, P.J.S.; Rodrigues, J.A.R. *Tetrahedron Asymmetry* **1997**, *8*, 2649; b) Kreutz, O.C.; Segura, R.C.M.; Rodrigues, J.A.R.; Moran, P.J.S. *Tetrahedron Asymmetry* **2000**, *11*, 2107.

<sup>6</sup> a) Rogers, P.L.; Shin, H.S.; Wang, B. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* **1997**, *56*, 33; b) Kanerva, L.T. *Acta Chem. Scand.* **1996**, *50*, 234; c) Reddy, G.V.; Rao, G.V.; Sreevani, V.; Iyengar, D.S. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 953; d) Bergemeier, S.C. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 2561; e) Rosche, B.; Sandford, V.; Breuer, M.; Rogers, P. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, *57*, 309; f) Shukla, V.B.; Madyar, V.R.; Khadilkar, B.M.; Kulkarni, P.R. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2002**, *77*, 137; g) Cho, B.T. *Aldrichimia Acta* **2002**, *35*, 3;

farmacêuticos, utilizados como descongestionantes nasais e antiasmáticos (broncodilatadores). A efedrina estimula a liberação de noradrenalina dos neurônios simpáticos, estimula a frequência e o débito cardíacos e aumenta de modo variável a resistência periférica, em consequência, a efedrina costuma elevar a pressão arterial. A estimulação dos receptores  $\alpha$ -adrenérgicos das células musculares lisas na base da bexiga pode aumentar a resistência ao fluxo urinário e ativação dos receptores  $\beta$ -adrenérgicos nos pulmões promove a broncodilatação. Recentemente, também foi reportada atuação no controle da obesidade.<sup>4,7</sup>

A biodisponibilidade de **2** na planta da qual é extraída, é insuficiente e a necessidade de desenvolvimento de uma tecnologia para a sua produção tornou-se importante. Além do uso farmacêutico, esta classe de compostos é muito utilizada em síntese orgânica, na preparação de eficientes auxiliares quirais.<sup>4</sup>

Um importante intermediário quiral da síntese da efedrina é o (*R*)-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (**4**), que foi um dos primeiros intermediários quirais obtido por biotransformações em escala industrial, sintetizado há mais de 60 anos por fermentação envolvendo uma condensação aciloínica em processo de batelada. Como várias outras biotransformações usando células vivas, estes processos fermentativos são limitados por vários fatores, incluindo sensibilidade das células e a produção de alguns subprodutos, reduzindo assim o rendimento e a enantiosseletividade.<sup>8</sup>

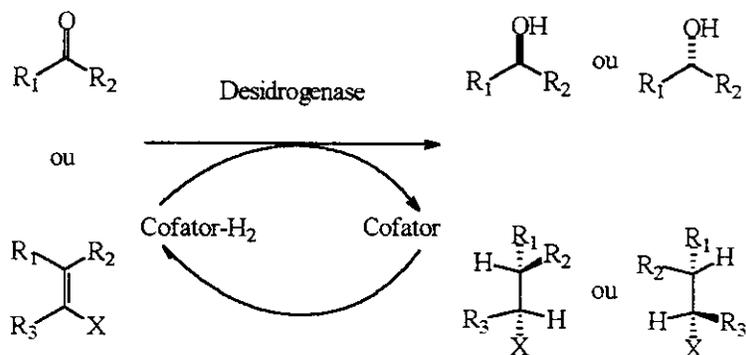
---

<sup>7</sup> Hardman, J.G.; Limbird, L.E.; Molinoff, P.B.; Ruddon, R. W.; Gilman, A.G. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics* 9<sup>ª</sup> ed. McGraw-Hill, 199. 1996;

<sup>8</sup> Goetz, G.; Iwan, P.; Hauer, B.; Breuer, M.; Pohl, M. *Biotechnol. Bioeng.* **2001**, *74*, 317-325;

## 1.5 – REDUÇÕES MICROBIOLÓGICAS

Enzimas empregadas em reações redox são classificadas em três categorias: desidrogenases, oxigenases e oxidases. As desidrogenases têm sido largamente utilizadas na redução de grupos carbonílicos de cetonas e aldeídos, e de ligações duplas carbono-carbono.

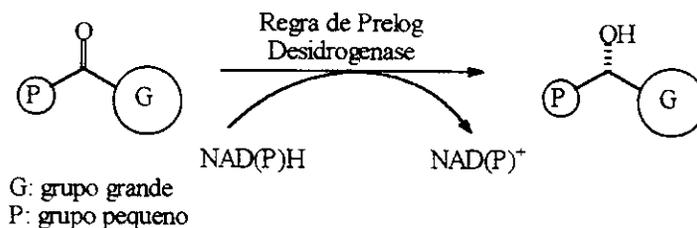


**Esquema 1**

As oxigenases utilizam oxigênio molecular como co-substrato e tem mostrado particular utilidade para as reações de oxidação, pois são capazes de catalisar a funcionalização de ligações C-H e C=C não funcionalizadas através de processos de hidroxilação e epoxidação, respectivamente. As oxidases, que são responsáveis pelas transferências de elétrons, tem sido utilizadas em menor quantidade em biotransformação de compostos orgânicos não-naturais, porém tem apresentado um pequeno crescimento em sua utilização.

### 1.5.1 – REGRA DE PRELOG

Uma larga variedade de cetonas podem ser reduzidas estereosseletivamente utilizando-se desidrogenases para fornecer álcoois secundários. Durante o curso da reação, a enzima pode liberar o hidreto, preferencialmente, pelo lado *re* ou pelo lado *si* da cetona para fornecer, em sistemas simples, os álcoois (*S*) ou (*R*), respectivamente. Para a maioria dos casos, a estereoquímica do curso da reação, a qual depende das características estereoquímicas do substrato, pode ser inferida por um simples modelo empírico chamado regra de Prelog.<sup>3</sup> A regra de Prelog é baseada na estereoquímica de reduções microbiológicas utilizando *Curvularia falcata* e estabelece que desidrogenases liberam o hidreto predominantemente pela face *re* de uma cetona pró-quiral. Para esta regra, as desidrogenases levam em consideração, somente o fator estérico dos grupos P e G (Esquema 2), não seguindo a regra de prioridades de Cahn-Ingold-Prelog.



**Esquema 2**

### 1.5.2 – REDUÇÕES MICROBIOLÓGICAS UTILIZANDO CÉLULAS ÍNTEGRAS

Ao contrário de desidrogenases isoladas, que requerem uma reciclagem sofisticada de cofatores, células íntegras microbiais podem ser utilizadas. Estas células possuem várias desidrogenases que são capazes de aceitar substratos não-

---

naturais e todos os cofatores e caminhos metabólicos necessários para a sua regeneração. Como consequência, fontes de carbonos baratos, como glicose ou sacarose, podem ser utilizados como substratos auxiliares para as reações de redução enantiosseletiva. Ademais, todas as enzimas e cofatores estão bem protegidos dentro do ambiente celular natural. Estas vantagens devem ser levadas em consideração, lado a lado, com alguns inconvenientes:

- A produtividade das conversões microbiais é normalmente baixa, pois a maioria dos substratos não-naturais são tóxicos para os organismos vivos e, portanto, são tolerados somente em baixas concentrações (~0,1-0,3% por volume);
- A grande quantidade de biomassa presente no meio reacional provoca um baixo rendimento global e torna problemático a recuperação do produto, principalmente quando o produto é armazenado dentro da célula, e não é excretado para o meio reacional;
- Finalmente, linhagens diferentes de um mesmo microrganismo podem possuir diferentes especificidades, então é importante usar exatamente a mesma cultura para obter resultados comparáveis com a literatura.

As baixas estereosseletividades podem ser causadas pela atuação de duas enzimas, cada uma com grande mas estereosseletividades opostas, competindo pelo mesmo substrato, sendo o excesso enantiomérico do produto determinado pelas velocidades relativas das reações individuais.

As técnicas gerais seguintes podem ser aplicadas para acentuar a seletividade das reações de redução microbiológicas:

- Modificação do substrato: a utilização de grupos protetores que podem ser removidos após a transformação;
- Variação dos parâmetros metabólicos através de imobilização;
- Utilização de células de diferentes idades;
- Variação das condições de fermentação;
- “Screening” de microrganismos para obter linhagens com propriedades ótimas;
- Inibição ou ativação seletiva de uma das enzimas competitivas;<sup>3</sup>
- O uso de solventes orgânicos de diferentes hidrofobicidades.<sup>9</sup>

### 1.5.3 – REDUÇÕES MICROBIOLÓGICAS MEDIADAS POR *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

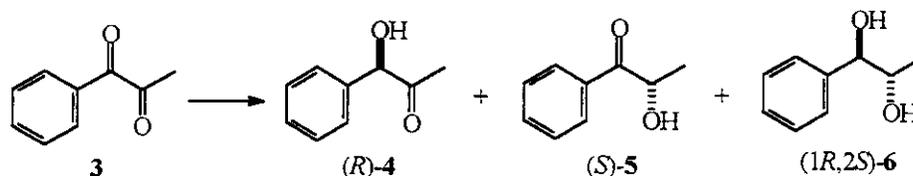
O fermento de pão (*Saccharomyces cerevisiae*) é o microrganismo mais utilizado para redução enantiosseletiva de cetonas, sendo ideal para não-microbiologistas. Cetonas alifáticas e aromáticas simples são reduzidas por fermento de pão de acordo com a regra de Prelog para os correspondentes (S)-álcoois com elevados valores de excesso enantiomérico.<sup>3</sup>

Takeshita e colaboradores<sup>10b</sup> obtiveram os compostos (R)-**4** (36%; 89% e.e.), (S)-**5** (46%; 94% e.e.) e (1R,2S)-**6** (7%; 89% e.e.) a partir da redução microbiológica da 1-fenil-1,2-propanodiona (**3**) a 9°C (Esquema 3). Estes pesquisadores relataram, através do monitoramento desta redução por espectroscopia de RMN de <sup>1</sup>H, que **3**

<sup>9</sup> Ohno, A. *Rev. Heteroatom. Chem.* **1999**, *20*, 29;

<sup>10</sup> a) Ohta, H.; Yamada, H.; Tsuchihashi, G. *Chem. Lett.* **1987**, 2325. b) Takeshita, M.; Sato, T. *Chem. Pharm. Bull.*, **1989**, *37*, 1085. c) Nakamura, K.; Kondo, S.; Kawai, Y.; Hida, K.; Kitano, K.; Ohno, A. *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, *7*, 409; d) Chenevert, R.; Thiboutot, S. *Chem. Lett.* **1988**, 1191;

era reduzido para formar (1*R*,2*S*)-**6** apresentando como intermediários de reação (*R*)-**4** e (*S*)-**5**.



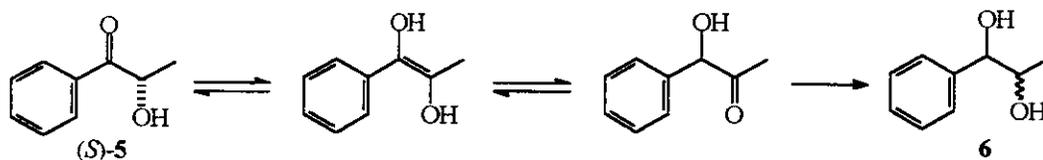
**Esquema 3**

Enquanto, Chenevert e Thiboutot<sup>10d</sup> obtiveram o composto (*S*)-**5** através da redução microbiológica de **3**, utilizando controle de pH (tampão de fosfato pH 5) com rendimentos químicos de 80% e excessos enantioméricos na faixa de 95% (Esquema 4).



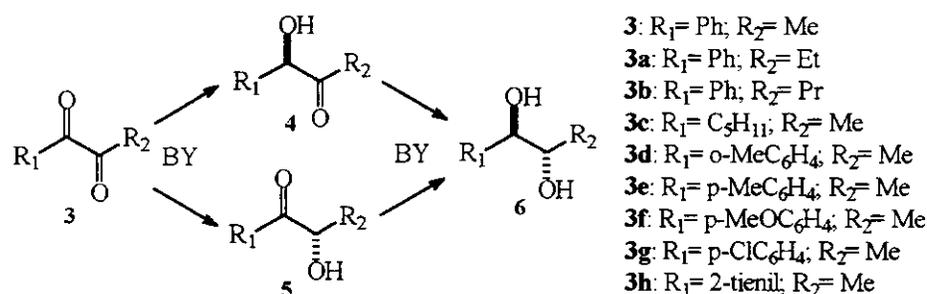
**Esquema 4**

Estes pesquisadores observaram também que quando o pH era maior, ocorria a formação da mistura de **5** e do respectivo diol, 1-fenil-1,2-propanodiol (**6**). A explicação provável proposta por eles para este fato foi que a reação envolvia a formação de um enediol (Esquema 5), com posterior redução ao diol com a lenta racemização do composto **5**.



**Esquema 5**

Nakamura e colaboradores<sup>10c</sup> também estudaram a redução de uma série de  $\alpha$ -dicetonas, propondo a utilização de inibidores (metil vinil cetona), pré-tratamento térmico do microrganismo (aquecimento do meio reacional contendo o microrganismo à temperatura de 53 °C) e reação a pH 7, como uma forma de reprimir a formação do diol, incrementando o rendimento químico dos cetóis e a regioseletividade das reduções microbiológicas de  $\alpha$ -dicetonas (Esquema 6).



**Esquema 6**

Na redução microbiológica de **3** (R<sub>1</sub>= Ph e R<sub>2</sub>= Me) mediada por fermento de pão, Nakamura obteve o melhor resultado aumentando a razão dos produtos (S)-**5**:(R)-**4** de 68:32 para 94:6, aumentando também o rendimento geral dos produtos de 38% para 81%. A MVK foi considerada um excelente inibidor, mas a inibição é dependente da concentração de MVK, pois se a mesma for utilizada em quantidades elevadas não se observa a formação dos cetóis.<sup>10c</sup>

A redução microbiológica de  $\alpha$ -dicetonas mediadas por fermento de pão fornece uma mistura de cetóis regioisômeros, além do correspondente diol, e também apresenta falta de reprodutibilidade dos resultados descritos na literatura, para elucidar estes problemas, Nakamura e cols. utilizaram enzimas isoladas para a

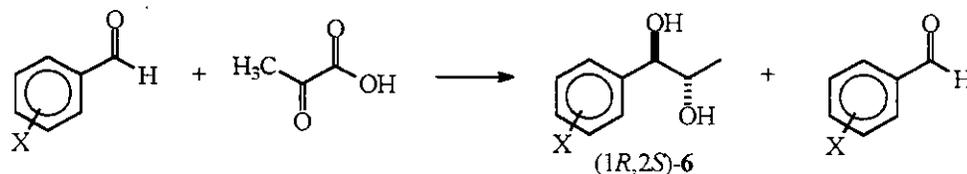
obtenção de um enantiômero puro. Nakamura utilizou a enzima YKER-I (Yeast Keto Ester Reductase-I) isolada do fermento de pão na redução de  $\alpha$ -dicetona **3**, onde obteve o composto (S)-**5** com 92% de rendimento e 95% e.e. e somente 2% em rendimento do composto (R)-**4**.<sup>11</sup>

Sorrilha e colaboradores<sup>1b</sup> utilizaram células de fermento de pão imobilizadas tentando promover uma maior estabilidade ao microrganismo, simplificação do isolamento dos produtos e reutilização do catalisador, como suporte para o fermento de pão, utilizou montmorilonita K10 e crisotila. Para o fermento de pão imobilizado com crisotila, obteve (S)-**5** com 35% de rendimento e 77% de e.e. e (1R,2S)-**6** com 4% de rendimento. Observou também que a reutilização do catalisador sem a adição de sacarose não promovia a redução da dicetona **3**. Com o tratamento do catalisador imobilizado com solução de KCl 2% e sacarose, Sorilha pôde observar o comportamento do fermento de pão imobilizado na redução de **3**.

Ohta e colaboradores<sup>12</sup> examinaram os efeitos de substituintes, pH e aditivos na reação de condensação aciloínica de benzaldeído substituídos e ácido pirúvico mediada por fermento de pão (Esquema 7). O ácido pirúvico é um metabólito proveniente da sacarose ou glicose para a formação de (1R,2S)-**6**. Esta condensação apresenta duas reações competitivas, a redução do benzaldeído para álcool benzílico e a formação de (1R,2S)-**6**. Realizando a reação em pH entre 8 e 9, Ohta obteve (1R,2S)-**6** com rendimento de 30% e e.d. 94%.

<sup>11</sup> Kawai, Y.; Hida, K.; Tsujimoto, M.; Kondo, S.; Kitano, K.; Nakamura, K.; Ohno, A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1999**, *72*, 99-102.

<sup>12</sup> Ohta, H.; Ozaki, K.; Konishi, J.; Tsuchihashi, G.-i. *Agric. Biol. Chem.* **1986**, *50*, 1261-1266;



### Esquema 7

Rosche e colaboradores<sup>13</sup> desenvolveram um sistema bifásico, octanol-água, para a reação enzimática de benzaldeído e ácido pirúvico em (*R*)-**4** com a utilização da enzima piruvato descarboxilase (PDC). Promovendo com este sistema a não inibição da atividade da PDC pela alta concentração do substrato, ou do produto e subprodutos da reação. Para este sistema, foram realizados dois experimentos. O primeiro com agitação vigorosa promovendo a formação de emulsão entre a fase orgânica e a aquosa, no qual obteve-se, após 49 horas, um rendimento de (*R*)-**4** de 91%. O segundo experimento foi realizado com agitação branda preservando a separação das fases, onde se obteve após 395 horas, um rendimento de 98%. Para ambos experimentos com este sistema bifásico, o e.e. de (*R*)-**4** produzido foi >99%.

Laurence e colaboradores,<sup>14</sup> na tentativa de também minimizar a perda de rendimento da condensação de benzaldeído e piruvato, realizaram esta condensação em solvente orgânico através de um processo não-fermentativo. Utilizou lactato que depois de oxidado pelo fermento, serve como fonte de piruvato, porém obtiveram um rendimento de 9% para (*R*)-**4**.

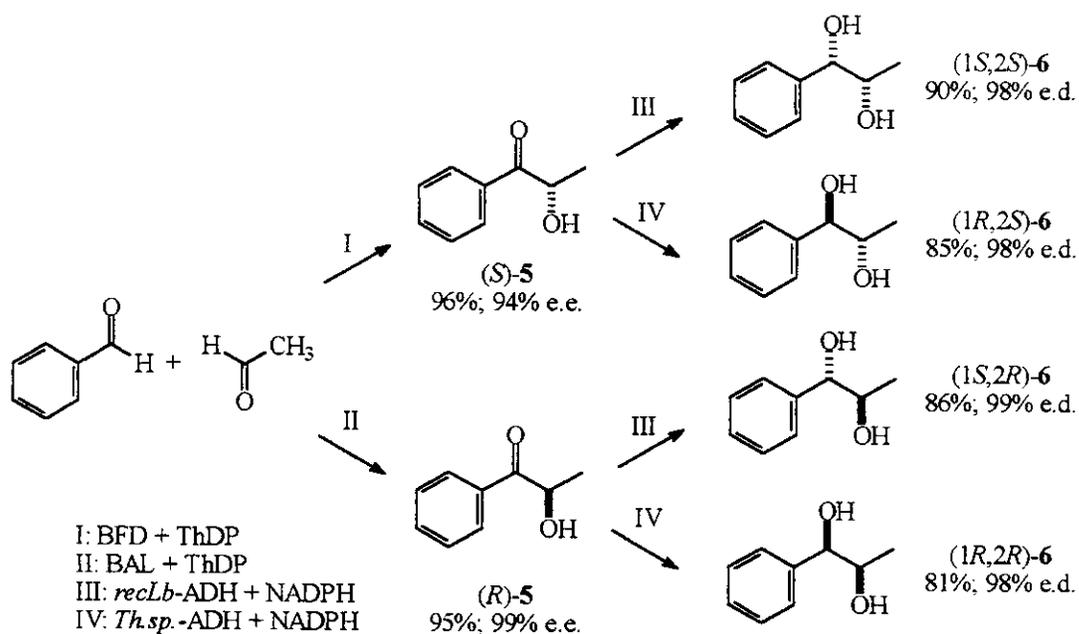
Kihumbu e colaboradores<sup>15</sup> obtiveram, através da utilização de uma combinação de enzimas isoladas, os enantiômeros do cetol **5** e os isômeros do diol

<sup>13</sup> Rosche, B.; Sandford, V.; Breuer, M.; Hauer, B.; Rogers, P.L. *J. Mol. Catal. B: Enzym* **2002**, *19-20*, 109-115.

<sup>14</sup> Laurence, G.; Smallridge, A.J.; Trewella, M.A. *J. Mol. Catal. B: Enzym* **2002**, *19-20*, 399-403.

<sup>15</sup> Kihumbu, D.; Stillger, T.; Hummel, W.; Liese, A. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, *13*, 1069-1072.

6. Para isso, utilizaram as enzimas benzaldeído liase (BAL) e benzoilformato descarboxilase (BFD) que são capazes de promover formação de ligações C-C, e a álcool desidrogenase recombinante *Lactobacillus brevis* (*recLb*-ADH) e a álcool desidrogenase termofílica *Thermoanaerobium species* (*Th. sp.*-ADH) que promovem a redução dos enantiômeros de **5** para os quatro isômeros de **6** (Esquema 8).



**Esquema 8**

## 2- OBJETIVOS E ESTRATÉGIA

### 2.1 - OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de rotas sintéticas para a síntese enantiosseletiva de aminoálcoois quirais, apresentando etapas-chaves envolvendo a redução enantiosseletiva de cetonas pró-quirais por fermento de pão (*Saccharomyces cerevisiae*).

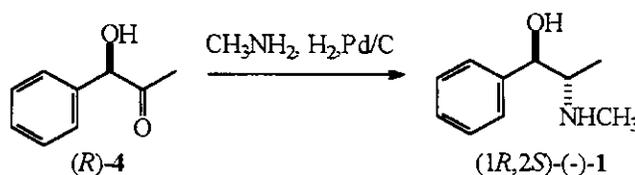
### 2.2 - ESTRATÉGIA

Para atingir esses objetivos, a estratégia escolhida envolve a síntese da 1-fenil-1,2-propanodiona (**3**), através da  $\alpha$ -oximação da propiofenona (**7**) seguida da hidrólise da (2*E*)-1-fenil-1,2-propanodiona 2-oxima (**8**) (Esquema 9).<sup>16</sup>



**Esquema 9**

O grande interesse na redução microbiológica de **3** é a possibilidade de obtenção de (*R*)-**4**, pois este pode sofrer uma aminação redutiva produzindo diretamente aminoálcoois com alto e.e., como a efedrina (**1**) (Esquema 10).

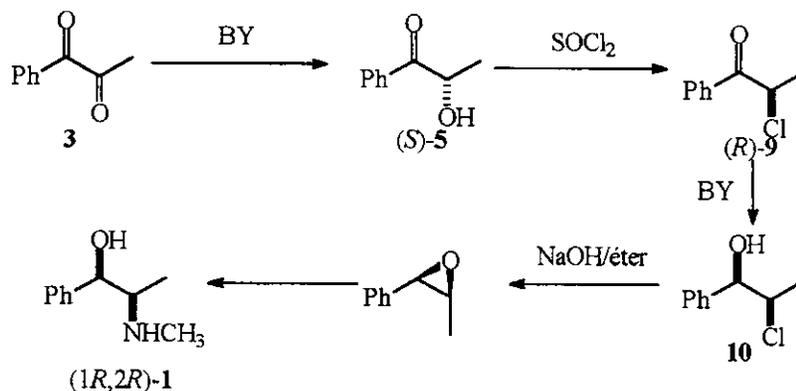


**Esquema 10**

<sup>16</sup> Slater, W.K. *J. Am. Chem. Soc.* **1920**, *117*, 587;

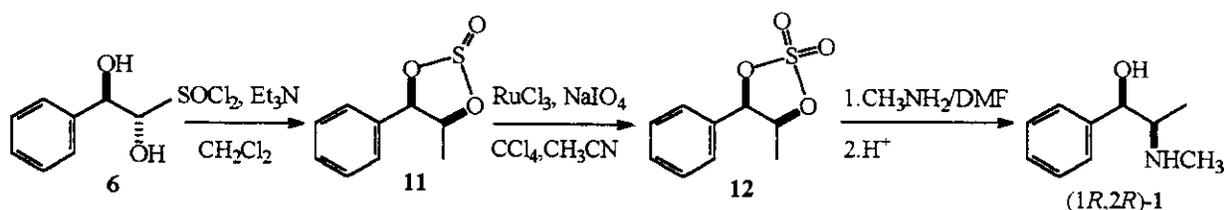
Com a obtenção dos demais produtos da redução microbiológica de **3**, (*S*)-**5** e (*1R,2S*)-**6**. Estes compostos serão empregados em outras rotas para uma possível produção de aminoálcoois quirais.

A rota de síntese que envolve a utilização de (*S*)-**5**, obtido baseando-se nos estudos realizados por Nakamura,<sup>10c</sup> está descrita no Esquema 11.



Esquema 11

A rota sintética que envolve a utilização de (*1R,2S*)-**6** na formação de sulfatos cíclicos através da metodologia de Sharpless, os quais podem sofrer ataques nucleofílicos, fornecendo aminoálcoois de interesse está descrita no Esquema 12.<sup>17</sup>

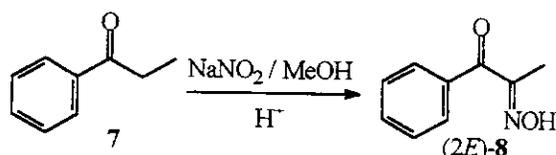


Esquema 12

<sup>17</sup> a) Gao, Y.; Sharpless, K.B., *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7538; b) Kim, B.M.; Sharpless, K.B. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 655. c) Richardson, P.F.; Nelson, L.T.J.; Sharpless, K.B. *Tetrahedron Letters* **1995**, *36*, 9241; d) Kemp, S.J.; Bao, J. Pedersen, S.F. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7162; e) Flores, F.G.C.; Mendoza, P.G.; Mateo, F.H.; García, J.I.; Gonzalez, F.S. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3944-3961; f) He, L.; Byun, H.-S.; Bittman, R. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 5696; g) He, L.; Byun, H.-S.; Bittman, R. *Tetrahedron Letters* **1998**, *39*, 2071; h) Maryanoff, B.E.; Costanzo, M.J.; Nortey, S.O.; Greco, M.N.; Shank, R.P.; Schupsky, J.J.; Ortegon, M.P.; Vaught, J.L. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1315; i) Jang, D.O.; Joo, Y.H.; Cho, D.H. *Synth. Commun.* **2000**, *30*, 4489; j) Byun, H.-S.; He, L.; Bittman, R. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 7051; k) Fuentes, J.; Angulo, M.; Pradera, M.A. *J. Org. Chem.* **2001**, *67*, 2577;

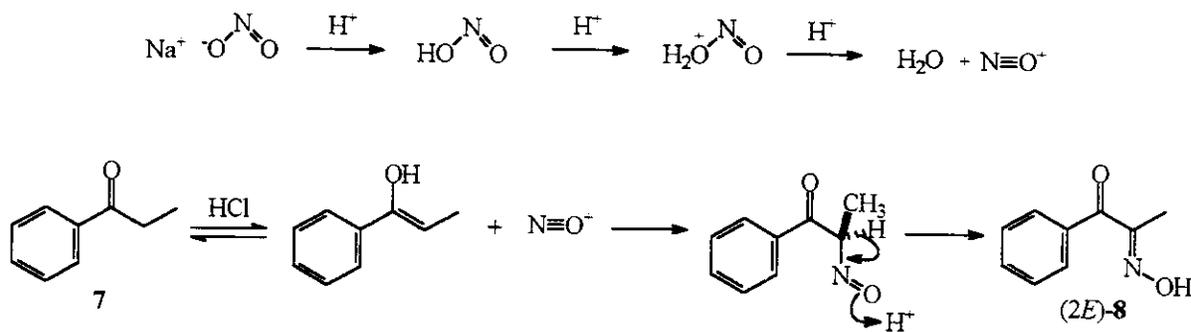
### 3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 – SÍNTESE DE (2E)-1-FENIL-1,2-PROPANODIONA 2-OXIMA (8)



Esquema 13

Através da  $\alpha$ -oximação de 7, obteve-se (2E)-8<sup>5</sup> na forma de cristais brancos com rendimento variando entre 68 e 80% e ponto de fusão 114,9-115,9°C (lit.<sup>18</sup> 115°C), utilizando-se do procedimento de Slater.<sup>16</sup> Apesar de antigo (1920), este procedimento ainda é um dos mais utilizados para a  $\alpha$ -oximação de compostos carbonílicos, o Esquema 14<sup>19</sup> descreve o mecanismo desta reação.



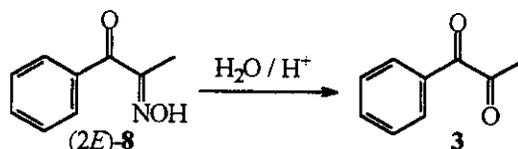
Esquema 14

<sup>18</sup> Beilstein's "Handbuch der Organischen Chemie", 1925, 7, 677;

<sup>19</sup> Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S.; Wothers, P. *Organic Chemistry*, 1<sup>a</sup> ed., Oxford University Press, Oxford, 2001, 593;

Na caracterização de (2E)-8, observou-se no espectro de infravermelho (Espectro 1), a presença de uma larga banda de estiramento O-H ( $3259\text{ cm}^{-1}$ ). No espectro de massas (Espectro 2), observa-se a presença do íon molecular ( $m/z$  163, 8%) e pico base referente ao fragmento  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}^+$  ( $m/z$  105, 100%). Além, do sinal da hidroxila em  $\delta$  8,95 no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Espectro 3) e a presença do sinal em  $\delta$  156,8 do carbono quaternário ligado ao nitrogênio nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Espectros 4 e 5).

### 3.2 – SÍNTESE DE 1-FENIL-1,2-PROPANODIONA (3)

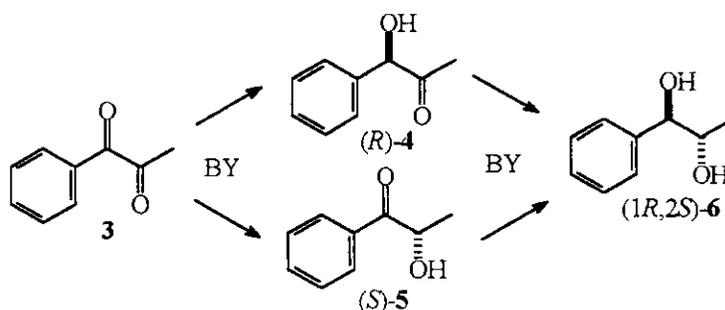


Esquema 15

Através da hidrólise ácida de (2E)-8 por hidrodestilação, obteve-se 3, um óleo amarelo com rendimentos variando entre 62 e 77%. No espectro de infravermelho (Espectro 6), observa-se a presença dos sinais de estiramento C=O das duas carbonilas em  $1672$  e  $1713\text{ cm}^{-1}$ . No espectro de massas (Espectro 7), observa-se a presença do íon molecular ( $m/z$  148, 1%) e pico base referente ao fragmento  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}^+$  ( $m/z$  105, 100%), já no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Espectro 8), observa-se a presença do sinal da metila em  $\delta$  2,52 e dos sinais dos hidrogênios aromáticos em  $\delta$  7,49;  $\delta$  7,64 e  $\delta$  8,01. E no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Espectros 9 e 10), observa-se a

presença das duas carbonilas em  $\delta$  191,4 e  $\delta$  200,5; correspondentes à C1 e C2, respectivamente.

### 3.3 – REDUÇÕES MICROBIOLÓGICAS DE 1-FENIL-1,2-PROPANODIONA (3)



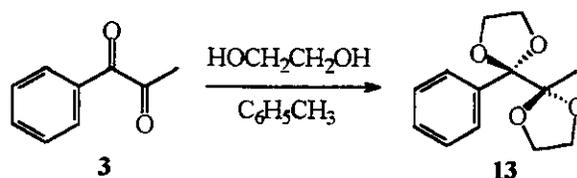
**Esquema 16**

A partir da obtenção de **3**, chegou-se à primeira etapa chave do trabalho envolvendo uma redução enantiosseletiva de cetonas pró-quirais por fermento de pão comercial (*Saccharomyces cerevisiae*) (Esquema 16), e também à primeira grande dificuldade encontrada, devido ao fato de ambas carbonilas de **3**, não manifestarem reatividades diferenciadas para redução microbiológica em água, levando à formação de uma mistura inseparável, por técnicas cromatográficas de coluna em sílica gel, dos cetóis regioisômeros (*R*)-**4** e (*S*)-**5**.

A primeira alternativa para sanar este problema seria a proteção de carbonila C2 de **3** com etilenoglicol em tolueno,<sup>20</sup> com posterior redução microbiológica da carbonila C1 e respectiva desproteção da carbonila C2, causando o acréscimo de

<sup>20</sup> Crimmi, M.T.; DeLoach, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 800-806;

duas etapas. Porém esta alternativa foi logo descartada, devido à constatação da dupla proteção das carbonilas de **3** (Esquema 17).



**Esquema 17**

Através do espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **13** (Espectro 13), pode-se observar os dois multipletos de integral 4 em δ 3,83 e δ 4,17; referente aos 4 hidrogênios de cada grupo –OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O– presente no produto da dupla proteção, aliado também ao fato do baixo rendimento (4-6 %).

### 3.3.1 - Estudo para obtenção seletiva de (*R*)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (**4**) através da biorredução de 1-fenil-1,2-propanodiona (**3**)

Devido ao grande interesse na redução microbiológica de **3** pela possibilidade de obtenção seletiva de (*R*)-**4** (Esquema 16), esta redução foi objeto de estudos na primeira etapa do trabalho através da variação das condições reacionais.

Utilizando-se tanto reação em meio aquoso (Procedimento 1)<sup>10a</sup> como reação em solventes orgânicos (Procedimento 2),<sup>21</sup> e a utilização de possíveis inibidores para a formação de (*S*)-**5** e (1*R*,2*S*)-**6**, tentou-se encontrar uma condição reacional que privilegiasse a obtenção de (*R*)-**4** (Tabela 1).

<sup>21</sup> a) Dumanski, P.G.; Florey, P.; Knetting, M.; Smallridge, A. J.; Trehwella, M. A. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2001**, *11*, 905; b) North, M. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *37*, 1699-1702; c) Rothmans, O.; Krieger, D.; Demuth, M.; Schaffner, K. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 935-938;

Tabela 1: Resultados obtidos para as combinações experimentais na biorredução de **3**.

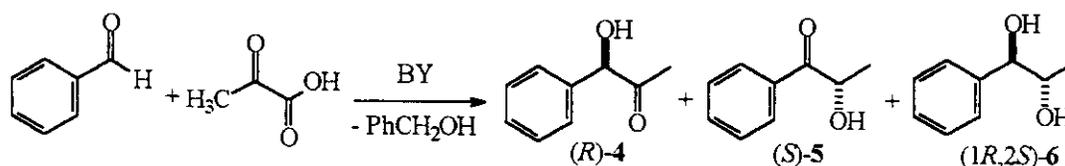
Entrada	Procedimento <sup>a</sup>	Aditivo ou solvente	<b>3</b>	<b>(R)-4</b>			<b>(1R,2S)-6</b>		
			mg	mg	<b>(R)-4 / (S)-5<sup>e</sup></b>	rend. (%)	e.e. (%) <sup>f</sup>	mg	rend. (%)
1	2	hexano	120	8	4,8 : 1	7	85	10	8
2	2	éter de petróleo	120	-	-	-	-	28	23
3	2	éter etílico	127	17	0,7 : 1	13	90	18	14
4	2	hexano/AcOEt 5%	135	6	9,1 : 1	4	77	23	17
5	2	hexano/AcOEt 10%	128	14	1,3 : 1	11	94	10	8
6	2	hexano/etilenoglicol <sup>c</sup>	144	28	2,9 : 1	19	86	7	9
7	1	-	130	32	1,1 : 1	24	86	54	40
8	1	etilenoglicol <sup>c</sup>	128	25	3 : 1	19	96	29	22
9	1	N <sub>2</sub> <sup>b</sup>	132	28	7,6 : 1	21	93	49	36
10	1	N <sub>2</sub> /etilenoglicol <sup>b,c</sup>	134	17	2,5 : 1	13	96	42	31
11	1	N <sub>2</sub> /O <sub>2</sub> <sup>b</sup>	133	28	14,5 : 1	21	96	50	37
12	1	Ar <sup>b</sup>	123	22	9,8 : 1	18	92	49	39
13	1	benzaldeído <sup>d</sup>	50	n.d.	11,1 : 1	n.d.	95	30	59

<sup>a</sup> Procedimento 1: T = 32 °C, 2 h, 0,42 mmol/g (**3**/BY), 25 mL solução tampão de fosfato pH 3; Procedimento 2: T = 32 °C, 2 h, 0,42 mmol/g (**3**/BY), 25 mL de solvente orgânico e 1,6 mL de água; <sup>b</sup> Borbulhamento dos respectivos gases por 20 minutos antes da adição de **3**; <sup>c</sup> Adição de 2,5 mL de etilenoglicol; <sup>d</sup> Utilização de 50 mg de **3** e adição de 100 mg de benzaldeído; <sup>e</sup> Determinado por análise de CG-EM ("fused silica capillary column DB-1", 30 m, 0,25 µm, 0,25 mm, He / IE, 70 eV); <sup>f</sup> Determinado por análise de GC-EM ("capillary "chiral" column: CHIRASIL-DEX", 30 m, 0,25 µm, 0,25 mm, He / IE, 70 eV).

A utilização de gases resultou nas combinações que se revelaram como as melhores condições reacionais para redução de **3** (principalmente Tabela 1; entradas 9, 11 e 12), pois os resultados foram os melhores tanto para os valores dos rendimentos de **(R)-4**, na razão obtida **(R)-4**:**(S)-5** como para os valores de excesso enantiomérico. Apesar dos rendimentos serem moderados, são relativamente maiores que na maioria dos outros casos. Sendo a condição reacional que utiliza borbulhamento de nitrogênio seguido do borbulhamento de oxigênio (Tabela 1; entrada 11) a que propiciou os melhores resultados.

De alguma maneira, possivelmente deve ocorrer uma inibição parcial da redução da carbonila C2 de (*R*)-4, ou seja, a redução deste grupo é mais lenta que a redução da carbonila C1 de (*S*)-5 que leva a (1*R*,2*S*)-6. Portanto, (*R*)-4 permanece presente por um maior tempo no meio reacional e neste ponto a redução microbiológica é interrompida e (*R*)-4 e (1*R*,2*S*)-6 são isolados da mistura reacional como produtos majoritários. Este fato também explica o baixo rendimento de (*R*)-4, em torno de 21%, enquanto que (1*R*,2*S*)-6 é obtido em 36% de rendimento.

### 3.3.2 - Procedimento 3: Condensação aciloinica de Benzaldeído e Ácido Pirúvico



**Esquema 18**

Uma alternativa para tentar melhorar os rendimentos e as razões (*R*)-4:(*S*)-5 na obtenção seletiva de 4 foi a utilização da condensação aciloinica do benzaldeído e o ácido pirúvico proveniente da glicólise (*Tabela 2*).<sup>12</sup>

**Tabela 2:** Resultados obtidos para a condensação aciloinica de benzaldeído com ácido pirúvico.

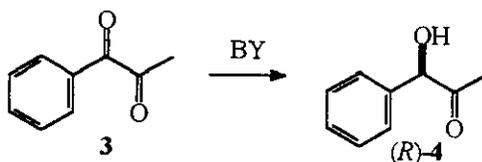
Entrada	Procedimento <sup>a</sup>	Aditivo ou solvente	benzaldeído	(R)-4			(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> )-6		
			mg	mg	( <i>R</i> )-4 : ( <i>S</i> )-5	rend. (%)	e.e. (%)	mg	rend. (%)
1	3	-	331	n.d.	57,4 : 1	n.d.	84	72	15
2 <sup>b</sup>	3	acetaldeído	340	n.d.	49,7 : 1	n.d.	81	98	20

<sup>a</sup> Procedimento 3: A 25 mL de água foram adicionados 6,25 g de fermento de pão seco e 5 g de glicose com período de pré-fermentação de 10 minutos. Então uma solução de benzaldeído (300 mg, 2,82 mmol) em etanol (1 mL) foi adicionada à suspensão fermentativa. Após 1 hora, 3,1 g de fermento de pão seco e 2,5 g de glicose foram adicionados mantida sob agitação por 3,5 horas <sup>b</sup> Mesmas condições do Procedimento 3 com adição de 300 mg de acetaldeído

Infelizmente, nesta alternativa não foi obtido grande êxito. Pois para este procedimento há a formação majoritária do produto de redução do benzaldeído, o álcool benzílico. Uma alternativa para se diminuir a formação do álcool benzílico foi a adição de acetaldeído (*Tabela 2; entrada 2*), conforme descrito por Ohta e colaboradores,<sup>18</sup> para que esse saturasse a enzima ou as enzimas responsáveis pela redução do benzaldeído, porém esta saturação não ocorreu e também observou-se a formação do álcool benzílico como produto majoritário.

Possivelmente, uma otimização deste procedimento levaria a melhores resultados, mas para isso deveria-se avaliar a influência de vários fatores reacionais para priorizar somente a formação de (*R*)-4.

### 3.3.3 - Obtenção de (*R*)-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (4)



**Esquema 19**

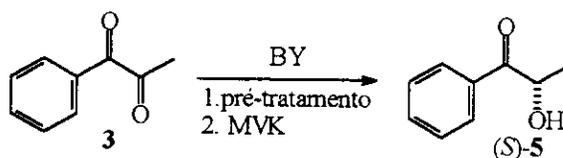
A partir dos resultados obtidos e descritos acima, escolheu-se a melhor combinação reacional para obtenção seletiva de (*R*)-4 (Esquema 19), utilizou-se o Procedimento 1 de redução microbiológica com fermento de pão seco que utiliza o borbulhamento de nitrogênio seguido de borbulhamento de oxigênio, obtendo-se um óleo transparente com rendimento de 21%;  $[\alpha]_D^{25} -198,1^{\circ}$  ( $c = 1,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ )

\* O valor de rotação ótica medido está discrepante com relação ao valor encontrado na literatura, este valor foi obtido por uma média de algumas medidas realizadas nos dois aparelhos do Instituto de Química da UNICAMP

{lit.  $[\alpha]_D^{22}$  -408,7 (c = 1,1;  $\text{CHCl}_3$ ); configuração absoluta (1*R*)}<sup>10b</sup> 96% e.e. e razão (iR)-4:(iS)-5 de 14,5:1. Estes resultados apresentam um incremento considerável nos valores dos excessos enantioméricos em comparação aos valores citados pela literatura 89% e.e.,<sup>10b</sup> sendo de grande interesse, pois (iR)-4 se trata de um importante intermediário quiral na síntese enantiosseletiva de aminoálcoois óticamente puros. O incremento nos valores de excessos enantioméricos pode ser considerado como uma importante conquista deste trabalho, devido à originalidade da utilização desta metodologia.

No espectro de infravermelho (Espectro 28) de (iR)-4, observa-se a presença da banda larga de estiramento O-H ( $3454\text{ cm}^{-1}$ ), além da presença do sinal do estiramento da carbonila ( $1713\text{ cm}^{-1}$ ). No espectro de massas (Espectro 29), observa-se a presença do íon molecular ( $m/z$  150, 1%) e o fragmento  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CHOH}^+$  ( $m/z$  107, 67%). No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Espectro 30), com a ajuda da literatura,<sup>10b</sup> pode-se atribuir o sinal dos hidrogênios da metila (singleto) em  $\delta$  2,08 (lit.:  $\delta$  2,06); OH em  $\delta$  3,88; hidrogênio benzílico em  $\delta$  5,09 (lit.:  $\delta$  5,08) e aromáticos em  $\delta$  7,34 (lit.:  $\delta$  7,33); também notando-se a presença de um sinal em  $\delta$  1,20 e  $\delta$  2,00 referentes a possíveis impurezas na amostra. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Espectro 31), observa-se o aparecimento de um carbono alifático em  $\delta$  80,1; CH caracterizado pelo espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT (Espectro 32) e a presença de somente uma carbonila  $\delta$  206,8.

### 3.3.4 - Obtenção de (S)-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (5)



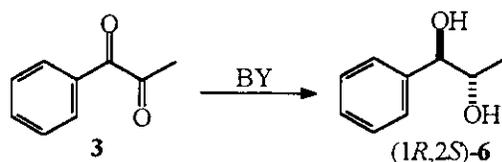
**Esquema 20**

A metodologia descrita por Nakamura e colaboradores<sup>10c</sup> foi empregada para promover a inibição na formação do diol (1*R*,2*S*)-**6** na redução de **3**, e observou-se também uma regiosseletividade na redução de  $\alpha$ -dicetonas.

Através desta metodologia, obteve-se (S)-**5** (Esquema 20), um óleo pastoso, com rendimentos entre 45-68%;  $[\alpha]_D^{20}$  -139,5 ( $c = 6,7$ ;  $\text{CHCl}_3$ ), {lit.<sup>10b</sup>  $[\alpha]_D^{24}$  -92,0 ( $c = 6,7$ ;  $\text{CHCl}_3$ ); configuração absoluta (2*S*)} e e.e. 96%. Uma vantagem observada é a possibilidade desta metodologia ser aplicada em larga escala, sendo possível a obtenção de uma boa quantidade de material de partida

No espectro de infravermelho (Espectro 33), observa-se a presença do sinal de estiramento C=O em  $1687 \text{ cm}^{-1}$  e a banda de estiramento O-H em  $3480 \text{ cm}^{-1}$ . No espectro de massas (Espectro 34), não se observa a presença do íon molecular ( $m/z$  150), somente a presença do pico base referente ao fragmento  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}^+$  ( $m/z$  105, 100%). No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (Espectro 35), ocorre um acoplamento entre o sinal da hidroxila  $\delta$  3,81 (duplete;  $J = 6,2 \text{ Hz}$ ) com o sinal do hidrogênio carbinólico  $\delta$  5,17 (duplo quarteto;  $J = 6,2 \text{ Hz}$ ;  $7,0 \text{ Hz}$ ), confirmado com o desaparecimento do sinal da hidroxila e a simplificação da multiplicidade do hidrogênio carbinólico após a adição de  $\text{D}_2\text{O}$  e registro de outro espectro (Espectro 36).

### 3.3.5 - Obtenção de (1*R*,2*S*)-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (6)



Esquema 21

A condição reacional, que utiliza o borbulhamento de nitrogênio seguido do borbulhamento de oxigênio, também foi escolhida para a obtenção de (1*R*,2*S*)-6 (Esquema 21), obtendo-se um óleo amarelo pálido com rendimentos entre 74-97%;  $[\alpha]_D^{25} -39,0$  ( $c = 3,2$ ;  $\text{CHCl}_3$ ) {lit.  $[\alpha]_D^{25} -38,6$  ( $c = 1,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ); configuração absoluta (1*R*,2*S*)};<sup>10b</sup> e e.e. > 99%. Para a obtenção de (1*R*,2*S*)-6, também ocorreu um incremento muito significativo nos valores dos excessos enantioméricos, quando comparado a valores descritos pela literatura, 94% e.e.,<sup>10b</sup> e também uma faixa de rendimento apreciável e muito importante.

No espectro de infravermelho de (1*R*,2*S*)-6 (Espectro 39), observa-se a banda larga do estiramento O-H em  $3387\text{ cm}^{-1}$ , a presença de estiramento de C-H aromático ( $3067, 3030\text{ cm}^{-1}$ ) e C-H alifático ( $2978\text{ cm}^{-1}$ ). No espectro de massas (Espectro 40), não se observa a presença do íon molecular ( $m/z 152$ ), mas sim do fragmento cátion radicalar  $\text{C}_6\text{H}_6\text{CHOH}^{+\bullet}$  ( $m/z 108, 67\%$ ). No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Espectro 41), o sinal da metila apresenta-se na forma de um duplete  $\delta 0,94$  ( $J = 6,2\text{ Hz}$ ); o hidrogênio de C2, um duplo quarteto,  $\delta 3,86$  ( $J = 4,0\text{ Hz}; 6,2\text{ Hz}$ ); o hidrogênio na posição benzílica um duplete em  $\delta 4,54$  ( $J = 4,0\text{ Hz}$ ) e os hidrogênios

aromáticos em  $\delta$  7,22. Nota-se no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Espectro 42), o aparecimento de dois carbonos alifáticos em  $\delta$  71,3 e  $\delta$  77,4; dois grupos CH caracterizados pelo RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT (Espectro 43).

### 3.3.6 - Estudo cinético da redução enantiosseletiva de 3, (*R*)-4 e (*S*)-5 através do acompanhamento da evolução das reações

Inicialmente, foi realizado um estudo para se observar a influência do pH na redução de 1, observou-se que as velocidades de decomposição dos intermediários diminuía com a diminuição do pH da mistura reacional, como mostra as Figuras 1 e 2.

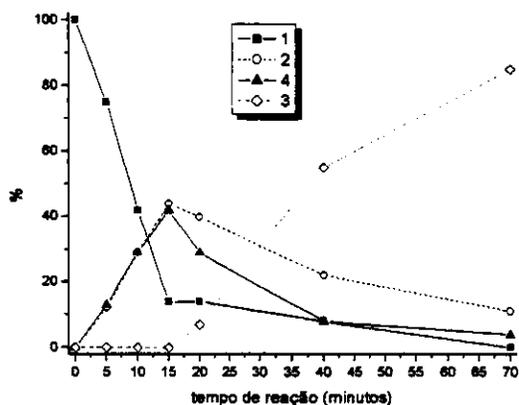


Figura 1: Evolução da redução de 1 em pH 4

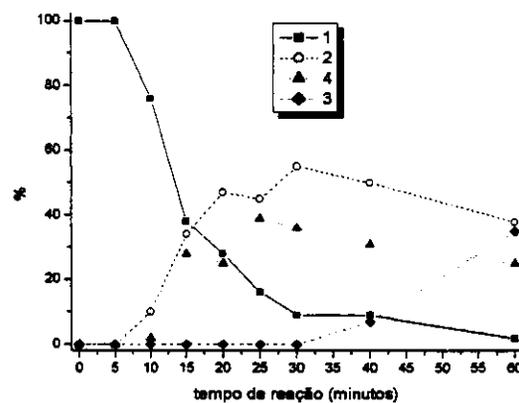


Figura 2: Evolução da redução de 1 em pH 4

Com base neste estudo semi-qualitativo, o pH escolhido para a realização desta redução foi pH 3.

A redução de 3, mediada por fermento de pão, foi acompanhada utilizando-se algumas condições reacionais: aeróbia (Figura 3); anaeróbia, com borbulhamento de nitrogênio (20 minutos) (Figura 4); borbulhamento de nitrogênio (20 minutos) seguido

de oxigênio (20 minutos) (Figura 6); borbulhamento de nitrogênio (60 minutos) seguido de oxigênio (20 minutos) (Figura 7), e borbulhamento de nitrogênio (6 horas) seguido de oxigênio (20 minutos) (Figura 8). As reduções de (*R*)-4 e (*S*)-5 em condições aeróbias e anaeróbias (borbulhamento de nitrogênio por 20 minutos) (Figura 5) também foram acompanhadas.

Na Figura 3, observou-se que a passagem de 3 para (*R*)-4 é um pouco mais rápida que a passagem de 3 para (*S*)-5. Enquanto que (*R*)-4 permanece por mais tempo no meio reacional em relação a (*S*)-5. Observou-se também que a razão (*R*)-4:(*S*)-5 é 1,5; no ponto máximo de produção de (*R*)-4 (60 minutos). A razão (*R*)-4:(*S*)-5 passa para 10 em 210 minutos, observando-se a presença de 483  $\mu\text{mol}$  de (*R*)-4.

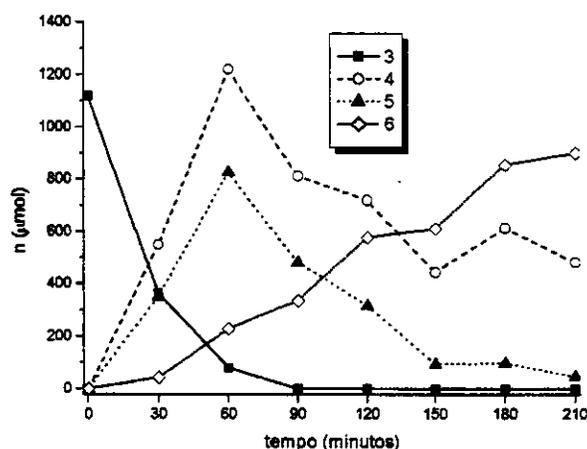


Figura 3: Evolução da redução de 3 em condição aeróbia

Na Figura 4, observou-se que a aparência nas curvas é praticamente a mesma em relação as curvas da Figura 3. Sendo a diferença mais notável, a passagem de (*R*)-4 para (1*R*,2*S*)-6 ser mais lenta. Observou-se que a razão

(*R*)-4:(*S*)-5 passa para 1,8 no ponto máximo de produção de (*R*)-4 (90 minutos), e que a razão (*R*)-4:(*S*)-5 passa para 12 a 210 minutos, observando-se a presença de 628  $\mu\text{mol}$  de (*R*)-4. Utilizando-se este procedimento, os produtos desta redução foram isolados à 210 minutos, obtendo-se (*R*)-4 com 26% de rendimento e e.e. 96%; e (1*R*,2*S*)-6 com 52% de rendimento e e.e. > 99%.

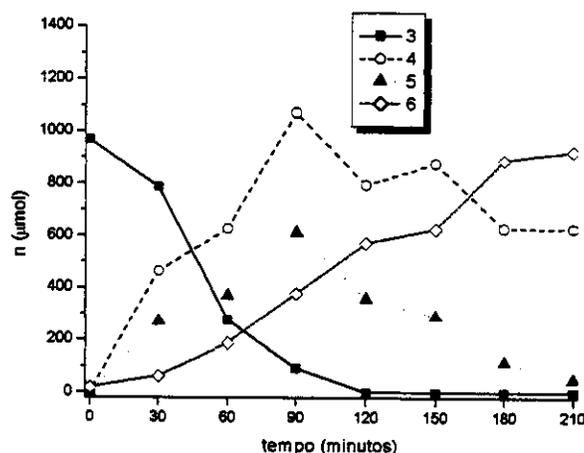


Figura 4: Evolução da redução de 3 em condição anaeróbia, borbulhamento de nitrogênio (20 minutos)

As reduções microbiológicas de (*R*)-4 e (*S*)-5 também foram acompanhadas em condições aeróbias e anaeróbias (Figura 5), para observar-se qual seria o comportamento de cada um destes compostos isolados perante as condições reacionais de redução. Observou-se que a redução de (*R*)-4 em condição anaeróbia é um pouco mais lenta que a redução em condição aeróbia, e que a redução de (*S*)-5 em condição anaeróbia é muito mais lenta que em condição aeróbia. Em condição aeróbia, (*S*)-5 é consumido em menos de 90 minutos, já em condição

anaeróbia leva mais de 240 minutos. Pode-se observar também que a redução de (*R*)-4 em relação a (*S*)-5 é mais lenta em condição anaeróbia.

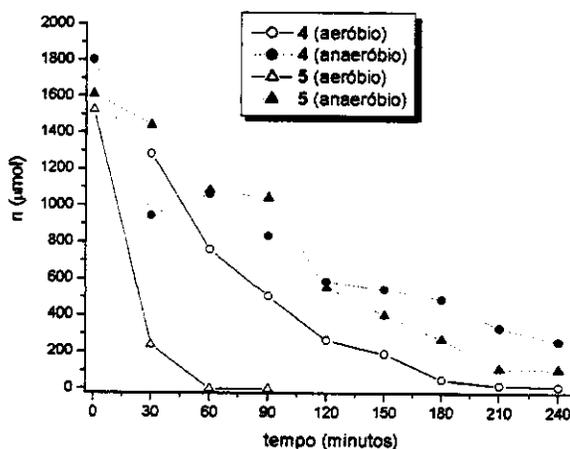


Figura 5: Evolução do consumo de (*R*)-4 e (*S*)-5 em condições: aeróbia e anaeróbia

Com o intuito de aproveitar os resultados obtidos para as reduções microbiológicas de (*R*)-4 e (*S*)-5, principalmente a diferença na passagem de (*S*)-5 para (1*R*,2*S*)-6 em condição aeróbia em relação a passagem de (*R*)-4 para (1*R*,2*S*)-6 em qualquer uma das condições reacionais, realizaram-se experimentos com borbulhamento de nitrogênio seguido de borbulhamento de oxigênio, com o objetivo de observar o mesmo efeito observado para (*S*)-5 isoladamente em condições aeróbias.

Na Figura 6, observou-se que a passagem de (*R*)-4 para (1*R*,2*S*)-6 tornou-se ainda mais lenta, e a razão (*R*)-4:(*S*)-5 no ponto máximo ficou em 1,8 a 30 minutos e a partir de 90 minutos, somente (*R*)-4 e (1*R*,2*S*)-6 estão presentes no meio reacional, observando-se a presença de 528 µmol de (*R*)-4 em 90 minutos. Utilizando-se este procedimento, os produtos desta redução foram isolados à 90

minutos, obteve-se (*R*)-**4** com 20% de rendimento e e.e. 96%, e (*1R,2S*)-**6** com 54% de rendimento e e.e. > 99%.

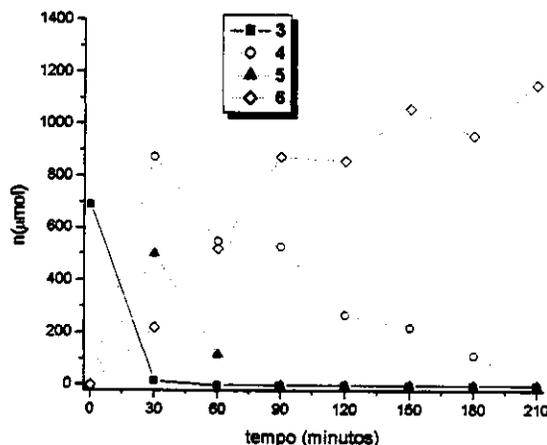


Figura 6: Evolução da redução de **3** com borbulhamento de nitrogênio (20 minutos) e oxigênio (20 minutos)

Na Figura 7, observou-se um acúmulo de (*R*)-**4** devido a uma maior produção a partir de **3** e menor consumo para a formação de (*1R,2S*)-**6**, enquanto que (*S*)-**5** é formado em menor quantidade, é rapidamente convertido para (*1R,2S*)-**6**. Utilizando-se o procedimento de borbulhamento de nitrogênio (20 minutos) seguido de borbulhamento de oxigênio (20 minutos), obteve-se (*R*)-**4** com 28-31% de rendimento e e.e. 96%, e (*1R,2S*)-**6** com 42-62% de rendimento e e.e. > 99% entre 75 e 90 minutos de reação.

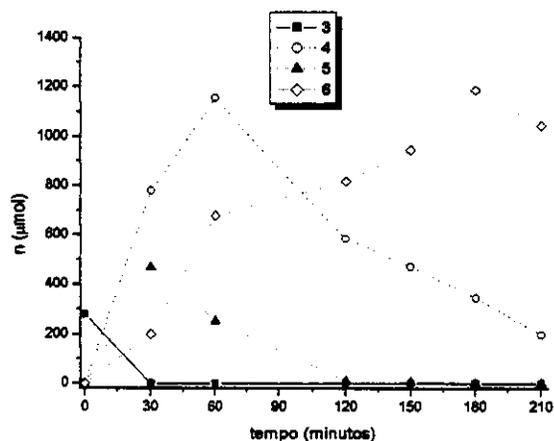


Figura 7: Evolução da redução de 3 com borbulhamento de nitrogênio (60 minutos) e oxigênio (20 minutos)

Objetivando-se a possibilidade do aumento no tempo de borbulhamento de nitrogênio proporcionar melhores resultados como foi observado na Figura 7, onde a produção de (*R*)-4 foi maior e a sua passagem para (1*R*,2*S*)-6 mais lenta, aumentou-se para 6 horas, o tempo de borbulhamento de nitrogênio. Observou-se que a passagem de 3 para (*R*)-4 e (*S*)-5 ocorreu praticamente com a mesma velocidade e a passagem de (*R*)-4 para (1*R*,2*S*)-6 um pouco mais lenta que a passagem de (*S*)-5 para (1*R*,2*S*)-6 (Figura 8).

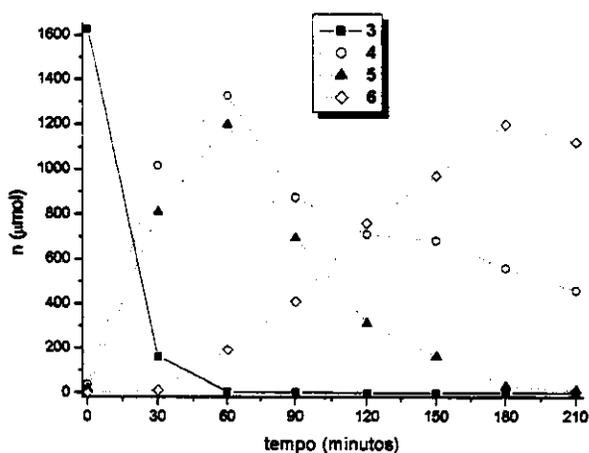


Figura 8: Evolução da redução de 3 com borbulhamento de nitrogênio (6 horas) e oxigênio (20 minutos)

### 3.3.7 - Estudo do efeito do açúcar na seletividade da redução de (3)

Mais algumas investigações sobre a redução microbiológica de **3** foram realizadas e uma dessas investigações foi a utilização de açúcar em diferentes quantidades no meio reacional.

**Tabela 3:** Resultados obtidos para utilização de açúcar na redução microbiológica de **3** à 30°C mediada por fermento de pão

Experimento <sup>a</sup>	Açúcar (g/200mL)	4+5			6
		rendimento (%) <sup>b</sup>	4:5	e.e. (%)	rendimento (%)
1	0	30	1,0:1	n.d.	10
2	0,5	13	1,3:1	n.d.	22
3	1	12	1,9:1	n.d.	25
4	3	26	2,8:1	98	20
5	4	23	3,6:1	n.d.	18
6	5	16	5,7:1	98	20
7	6	26	2,6:1	n.d.	27
8	8	31	2,1:1	98	27

<sup>a</sup> Tempo de reação, 1h; <sup>b</sup> Rendimento isolado

Observou-se que conforme a concentração de açúcar aumenta ocorre um aumento na seletividade para a formação de (R)-**4** até um máximo, quando se utilizam 5 g de açúcar/200 mL de água, seguido por um decréscimo na seletividade quando se utiliza açúcar em maior quantidade.

### 3.3.8 - Estudo do efeito da utilização da resina XAD-7 na seletividade e no rendimento da redução microbiológica de 1-fenil-1,2-propanodiona (3)

Outra investigação na redução de 3 foi a utilização simultânea de açúcar, resina XAD-7 e condição anaeróbia (Tabela 4). Observou-se que na maioria dos casos ocorreu um aumento no rendimento tanto para (*R*)-4 como para (1*R*,2*S*)-6.

Tabela 4: Resultados obtidos para utilização da resina XAD-7 na redução microbiológica<sup>a</sup> de 3 mediada por fermento de pão

Experimento	XAD-7	Argônio	Açúcar	(R)-4			(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> )-6
				rendimento (%) <sup>e</sup>	( <i>R</i> )-4: ( <i>S</i> )-5	e.e. (%)	rendimento (%) <sup>e</sup>
9 <sup>a</sup>	N <sup>c</sup>	N	N	30	1,8:1	n.d.	44
10 <sup>a</sup>	N	N	S <sup>d</sup>	39	2,8:1	97	50
11 <sup>b</sup>	N	S	N	14	14,2:1	n.d.	73
12 <sup>b</sup>	N	S	S	28	21,5:1	98	71
13 <sup>a</sup>	S	N	N	30	1,9:1	87	55
14 <sup>a</sup>	S	N	S	30	3,8:1	90	46
15 <sup>b</sup>	S	S	N	22	2,4:1	92	50
16 <sup>b</sup>	S	S	S	28	6,5:1	93	38

<sup>a</sup> Reações em condições aeróbias realizadas em 1 hora <sup>b</sup> Reações em condições anaeróbias foram realizadas em 2 horas <sup>c</sup> Não utilizado; <sup>d</sup> Utilizado; <sup>e</sup> Rendimentos isolados.

### 3.3.9 - Estudo cinético da redução enantiosseletiva de 3, utilizando-se atmosfera inerte e açúcar

O acompanhamento da redução para o Experimento 12 (Tabela 4) foi realizado, observando-se que, neste caso, (*S*)-5 é formado preferencialmente e seu consumo é muito rápido, ao passo que com 30 minutos (*R*)-4 já está presente em maior quantidade no meio reacional. Também pode-se observar que (*R*)-4 possui um maior tempo de vida no meio reacional.

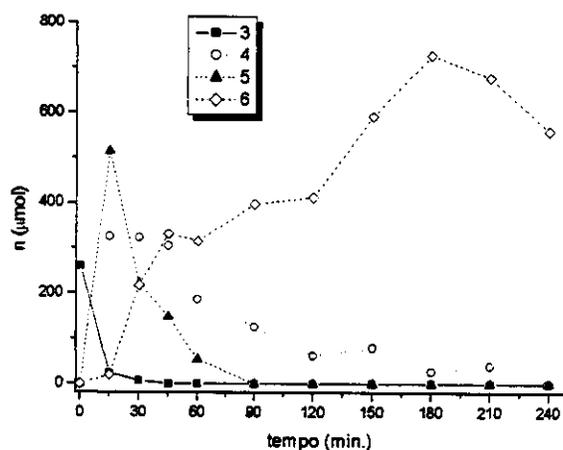
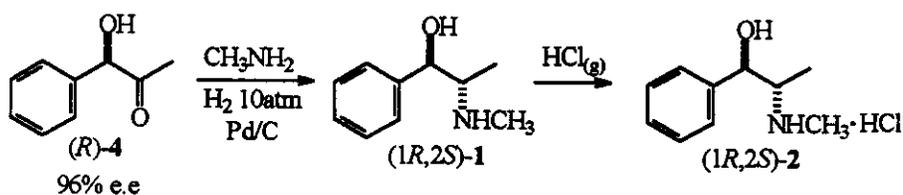


Figura 9: Evolução da redução de 3 em condição anaeróbica e na presença de açúcar

### 3.4 – SÍNTESE DO CLORIDRATO DE EFEDRINA (2)



#### Esquema 22

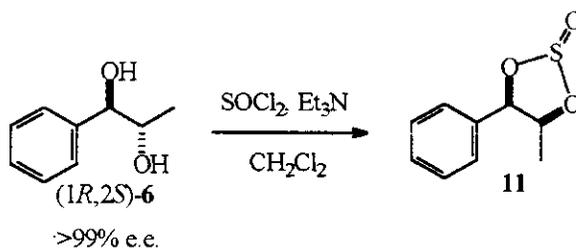
Sintetizou-se o cloridrato de efedrina (1R,2S)-2 pela aminação redutiva de (R)-4, levando à formação de (1R,2S)-1 que sem prévia purificação foi submetido à formação do cloridrato através de borbulhamento de ácido clorídrico, obtendo-se (1R,2S)-2 com rendimentos entre 15-40%; registrando-se faixa de fusão de 215,8-219,0°C (lit.<sup>22</sup> 216-220°C);  $[\alpha]_D^{20}$  -20,0 (c = 5,0; H<sub>2</sub>O), {lit.<sup>23</sup>  $[\alpha]_D^{25}$  -33 a -35,5 (c = 5,0; H<sub>2</sub>O); configuração absoluta (1R,2S)}. No espectro de infravermelho de (1R,2S)-2 (Espectro 19), observa-se a banda larga do estiramento N-H em

<sup>22</sup> Merck Index, 12, 3645

<sup>23</sup> Subramanian, P.M.; Chatterjee, S.K.; Bhatia, M.C. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 1987, 39, 215-218;

3342  $\text{cm}^{-1}$  e a presença de estiramento de C-H alifático em 2973  $\text{cm}^{-1}$ . No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Espectro 20), o sinal da metila C3 apresenta-se na forma de um duplete  $\delta$  1,15 ( $J = 7,0$  Hz); a metila ligada ao nitrogênio em  $\delta$  2,78 (singlete); o hidrogênio de C2, um singlete,  $\delta$  3,86; o hidrogênio na posição benzílica, um duplete, em  $\delta$  5,14 e os hidrogênios aromáticos em  $\delta$  7,44. Nota-se no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Espectro 21), a presença dos dois carbonos das metilas em  $\delta$  9,6 e  $\delta$  30,5.

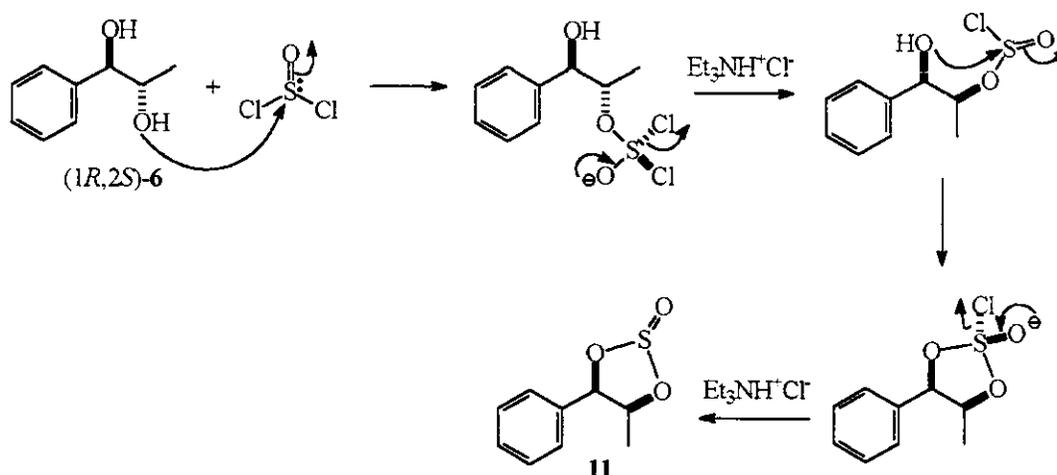
### 3.5 – SÍNTESE DE (4R,5S)-4-FENIL-5-METIL-1,3,2-DIOXATIOLANO-2-ÓXIDO (11)



**Esquema 23**

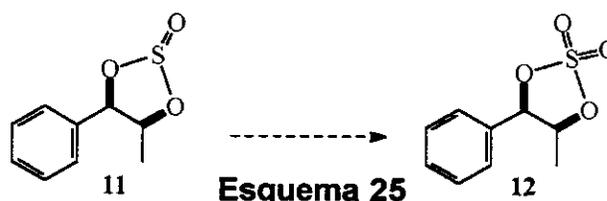
A partir de (1R,2S)-6, obteve-se uma mistura de sulfitos cíclicos diastereoisoméricos (2R,4R,5S)- e (2S,4R,5S)-11, na forma de um óleo marrom pálido, com rendimentos variando entre 61-84%. Através do cromatograma de CG e dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (Espectro 16) e de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Espectro 17), pode-se observar a duplicação dos sinais confirmando a formação de dois diastereoisoméricos, devido à introdução do terceiro centro quiral localizado no

átomo de enxofre do sulfito, o Esquema 24 descreve o mecanismo de formação da mistura diastereoisomérica de sulfitos cíclicos **11**.



**Esquema 24**

### 3.6 – SÍNTESE DE 4-FENIL-5-METIL-1,3,2-DIOXATIOLANO-2,2-DIÓXIDO (**12**)



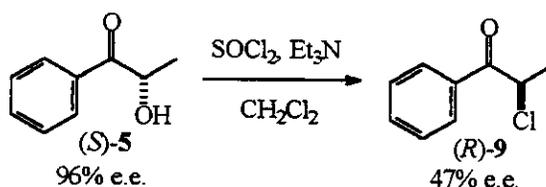
**Esquema 25**

Outro ponto que apresentou grande dificuldade foi a oxidação de **11** a **12**. Algumas variações da metodologia utilizada por Sharpless, para formação de sulfatos, a partir da oxidação de sulfitos com periodato de sódio e cloreto de rutênio III foram utilizadas, porém nenhuma com sucesso. Pois quando **11** reagia, formavam-se muitos subprodutos o que dificultava o isolamento de **12**. Alternativamente, realizou-se a reação de **(1R,2S)-6** com cloreto de sulforila em

diclorometano para obtenção direta do sulfato cíclico **12**, porém não se obteve sucesso.

Também utilizou-se para a oxidação de **11**, permanganato de potássio, modificando-se a metodologia descrita por Ferreira e colaboradores,<sup>24</sup> porém também não obteve-se sucesso nesta oxidação. Primeiramente, utilizou-se acetona como solvente e observou-se que o permanganato era solúvel em acetona, não permanecendo adsorvido em sílica. Optou-se pela troca de solvente por hexano, sendo que neste solvente o permanganato não era solúvel e permanecia adsorvido na sílica. Quando a acetona era utilizada como solvente, observou-se a decomposição de **11** e quando foi utilizado hexano observou-se que **11** não chegou a reagir.

### 3.7 – SÍNTESE DE (*R*)-2-CLORO-1-FENIL-1-PROPANONA (**9**)



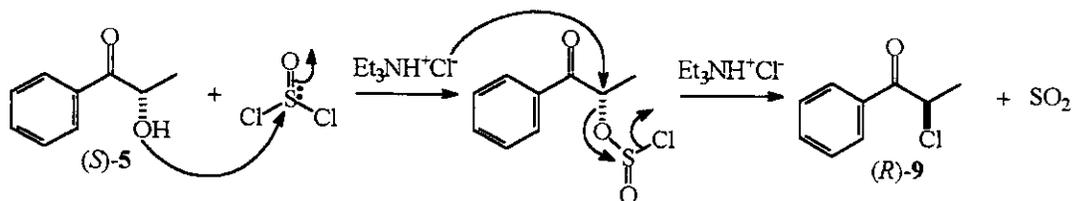
**Esquema 26**

Alguns procedimentos foram utilizados para a síntese da (*R*)-2-cloro-1-fenil-1-propanona (**9**) (Esquema 26), somente o procedimento utilizado por Sharpless foi interessante, obtendo-se (*R*)-**9**, um óleo marrom com rendimento

<sup>24</sup> Ferreira, J.T.B.; Cruz, W.O.; Vieira, P.C.; Yonashiro, M. *J. Org. Chem.* 1987, 52, 3698-3699;

de 65% e e.e. 47%;  $[\alpha]_D^{20}$  -10,0 (c = 1,0;  $\text{CDCl}_3$ ) {lit.<sup>25</sup>  $[\alpha]_D^{25}$  +15,20 (c = 1,0;  $\text{CHCl}_3$ ); (2*S*)}, indicando a inversão parcial da configuração de C2 de **5** para (2*R*) em **9**.

A formação de (*R*)-**9** ocorreu através de um prevalectimento do mecanismo  $\text{S}_{\text{N}}2$ , causando uma inversão parcial da configuração absoluta do carbono C2, resultante do ataque dos íons  $\text{Cl}^-$  livres pelo lado oposto ao da liberação do grupo de saída (Esquema 27).



**Esquema 27**

<sup>25</sup> Sonawane, H.R.; Bellur, N.S.; Kulkarni, D.G.; Ayyangar, N.R. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 1243-1260.

---

## 4- CONCLUSÕES

---

Na redução microbiológica de **3**, os resultados obtidos para as condições reacionais que utilizam o borbulhamento de gases foram os melhores para os rendimentos de (*R*)-**4**, nas razões obtidas (*R*)-**4**:(*S*)-**5** e também para os valores de excessos enantioméricos. A condição reacional que utiliza borbulhamento de nitrogênio (60 minutos) seguido de oxigênio (20 minutos) foi a que propiciou os melhores resultados, obtendo-se (*R*)-**4** com rendimento de 28-31% e 96% de e.e., juntamente com o experimento que utiliza borbulhamento de argônio e açúcar, onde obteve-se (*R*)-**4** com rendimento de 28% e 98% de e.e. O desenvolvimento deste procedimento é muito importante, uma vez que o composto (*R*)-**4** é um intermediário quiral para a síntese de efedrina.

A metodologia descrita por Nakamura e col. promove uma grande regioseletividade da redução de **3**, fornecendo (*S*)-**5** com rendimentos entre 45-68% e e.e. 96%. Uma vantagem observada é a possibilidade desta metodologia ser aplicada em larga escala, apresentando o mesmo rendimento e excesso enantiomérico.

Para a obtenção de (*1R,2S*)-**6**, também escolheu-se a condição reacional que utiliza o borbulhamento de nitrogênio (20 minutos) seguido de oxigênio (20 minutos) que propiciou a obtenção de (*1R,2S*)-**6** com rendimentos entre 74-97% e e.e. >99%.

A utilização da redução em solvente orgânico, condensação aciloínica de benzaldeído e ácido pirúvico e a adição de inibidores (etilenoglicol e benzaldeído)

não foram bem sucedidas, os rendimentos foram muito baixos e para os últimos dois casos não foi possível o isolamento de (*R*)-4.

Pode-se observar que para as reações em condições anaeróbias, o consumo de (*R*)-4 ou (*S*)-5 é mais lento que em condições aeróbias. Também foi observado que a redução, em condições anaeróbias, de (*R*)-4 em relação a (*S*)-5 é mais lenta, justificando o isolamento de (*R*)-4 e (1*R*,2*S*)-6 como produtos majoritários na redução de **3**, pois a formação de (*S*)-5 é menor e sua redução é mais rápida que (*R*)-4.

---

## 5- PARTE EXPERIMENTAL

---

### 5.1 – INFORMAÇÕES GERAIS

Utilizou-se um Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear Varian modelo Gemini 300P, clorofórmio deuterado como solvente e tetrametilsilano como referência interna. Os deslocamentos químicos foram expressos em  $\delta$ ; indicando-se a multiplicidade (s, singleto; d, duplete; l, largo; t triplete; q, quarteto; m, multiplete), constante de acoplamento ( $J$ ) em Hertz e número de hidrogênios.

Os espectros de Infravermelho foram obtidos em um Espectrômetro Bomem MB Séries Hartmann & Braun, utilizando-se filme em cela de NaCl e pastilha de KBr.

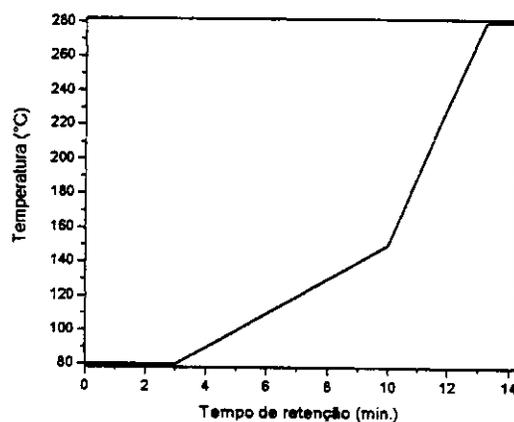
Os cromatogramas de Cromatografia Gasosa e espectros de Espectrometria de Massas foram registrados em CG/EM, Shimadzu modelo Class 5000, coluna DB1 (30m x 0,25mm x 0,25 $\mu$ m; Métodos 1 e 2) e coluna quiral CHIRASIL-DEX Chromatopak (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m; Método 3). Abaixo estão descritas as condições dos métodos utilizados para obtenção dos cromatogramas de Cromatografia Gasosa.

**Método 1:** Gás de arraste: He; Temperaturas iniciais: coluna: 80°C; injetor: 230°C; detector: 280°C; Pressão da coluna: 100kPa; Fluxo da coluna: 1,5 mL/min; Split ratio: 44; Fluxo total: 70,5 mL/min;

**Tabela 5: Programação de temperatura da coluna cromatográfica DB 1, Método 1;**

<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Velocidade de Aquecimento (°C/min)</i>	<i>Tempo de Equilíbrio (min)</i>
80	-	3
80-150	10	0
150-280	40	0
280	-	1

Tempo total: 14,25 minutos

**Figura 10: Programação de temperatura do Método 1**

**Método 2:** Gás de arraste: He; Temperaturas iniciais: coluna: 100°C; injetor: 230°C; detector: 280°C; Pressão da coluna: 100kPa; Fluxo da coluna: 1,3 mL/min; Split ratio: 51; Fluxo total: 70,5 mL/min;

**Tabela 6: Programação de temperatura da coluna cromatográfica DB 1, Método 2;**

<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Velocidade de Aquecimento (°C/min)</i>	<i>Tempo de Equilíbrio (min)</i>
100	-	3
100-150	10	0
150-280	40	0
280	-	1

Tempo total: 12,25 minutos

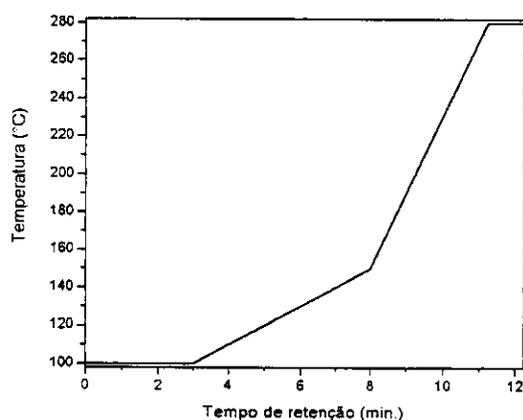


Figura 11: Programação de temperatura do Método 2

**Método 3:** Gás de arraste: He; Temperaturas iniciais: coluna: 120°C; injetor: 230°C; detector: 250°C; Pressão da coluna: 100kPa; Fluxo da coluna: 1,5 mL/min; Split ratio: 46; Fluxo total: 74,1 mL/min;

Tabela 7: Programação de temperatura da coluna cromatográfica CHIRASIL-DEX, Método 3;

Temperatura (°C)	Velocidade de Aquecimento (°C/min)	Tempo de Equilíbrio (min)
120	-	3
120-220	5	0
220	-	2

Tempo total: 25,00 minutos

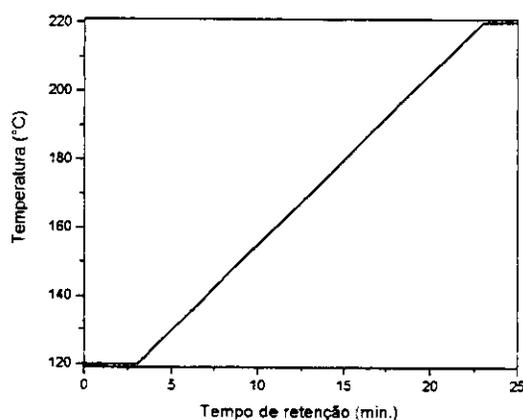


Figura 12: Programação de temperatura do Método 3

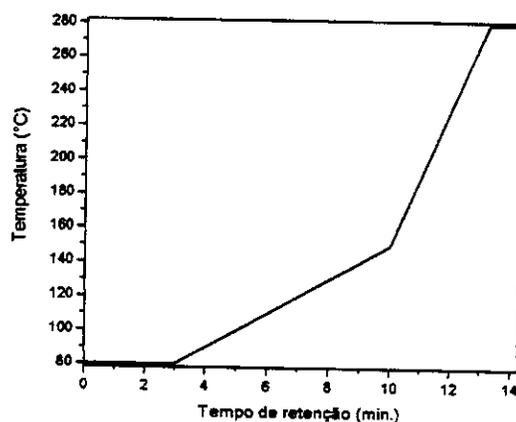
Também foi utilizado para registro de cromatogramas de Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas, um aparelho Agilent 6890 Series GC System acoplado a Hewlett Packard 5973 Mass Selective Detector, coluna HP-5MS Fenil Metil Siloxano 5% (30,0 m x 250  $\mu$ m x 0,25  $\mu$ m; Métodos 4). Coluna quiral capilar Hamburg Heptakis (2,3-dimetil-6-pentil)- $\beta$ -ciclodextrina (24,9 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m; Método 5). Abaixo estão descritas as condições dos métodos utilizados para obtenção dos cromatogramas de Cromatografia Gasosa.

**Método 4:** Gás de arraste: He; Temperaturas iniciais: coluna: 80°C; injetor: 280°C; detector: 300°C; Pressão da coluna: 64,7 kPa; Fluxo da coluna: 1,0 mL/min; Split ratio: 37; Fluxo total: 104,0 mL/min;

**Tabela 8:** Programação de temperatura da coluna HP-5MS, Método 4;

Temperatura (°C)	Velocidade de Aquecimento (°C/min)	Tempo de Equilíbrio (min)
80	-	3
80-150	10	0
150-280	40	0
280	-	1

Tempo total: 14,25 minutos



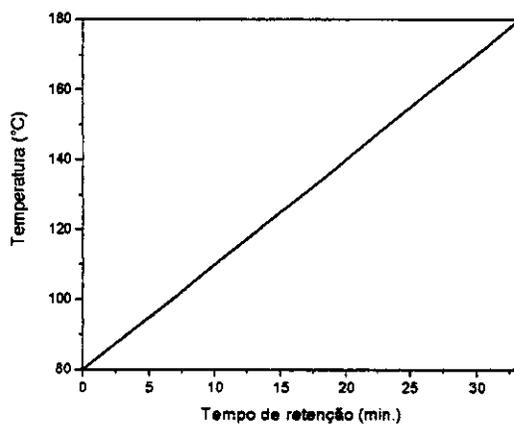
**Figura 13:** Programação de temperatura do Método 4

**Método 5:** Gás de arraste: H<sub>2</sub>; Temperaturas iniciais: coluna: 80°C; injetor: 250°C; detector: 250°C; Pressão da coluna: 62,3 kPa; Fluxo da coluna: 1,6 mL/min; Split ratio: 48,0; Fluxo total: 41,5 mL/min;

**Tabela 9:** Programação de temperatura da coluna Heptakis, Método 5;

Temperatura (°C)	Velocidade de Aquecimento (°C/min)	Tempo de Equilíbrio (min)
80	3	0
180	-	0

Tempo total: 33,33 minutos



**Figura 14:** Programação de temperatura do Método 5

As determinações dos valores dos ângulos dos desvios óticos foram obtidas em um Polarímetro J-720, VRDM306 JASCO, 589,3 nm; Polamat A Carlzeiss, com lâmpada de Hg (546 nm); Lep A2 Carl Zeiss, com lâmpada de Na (589 nm).

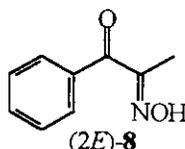
Os pontos de fusão obtidos em Aparelho de Ponto de Fusão Modelo MQAPF-301 marca Micro Química.

Cromatografia em Camada Delgada (CCD): utilizou-se placas sílica gel IB-F (J.T. Baker) e, para as preparativas (CCDP): sílica gel 60 GF<sub>254</sub> (Merck) e sílica gel 60 HF<sub>254</sub> (Merck). As revelações foram efetuadas com UV de 254 e 360 nm.

Cromatografia em Coluna (CC): utilizou-se sílica gel 60 (tamanho de partícula 0.063-0.200 mm; 70-230 mesh ASTM).

Nas reduções microbiológicas com *Saccharomyces cerevisiae*, utilizou-se fermento seco instantâneo, tipo Emulzint®.

## 5.2 – SÍNTESE DE (2E)-1-FENIL-1,2-PROPANODIONA 2-OXIMA (8)<sup>16</sup>

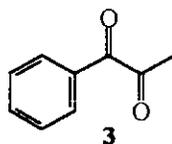


Em um balão de três bocas de 250 mL conectado a um condensador de bolas, colocaram-se 15,5 g (115,5 mmol) de propiofenona (7) e 75 mL de éter etílico. Nas outras duas bocas, conectaram-se dois sistemas geradores de gases compostos por um kitassato e um funil de separação.

No primeiro sistema de gases, no kitassato foram colocados 8,0 g (115,9 mmol) de nitrito de sódio em 5 mL de metanol e 5 mL de água e no funil de separação foi colocado 30 mL de uma solução de ácido sulfúrico (30%). No segundo sistema de gases, no kitassato foram colocados 10 g de cloreto de sódio e 10 mL de ácido clorídrico concentrado e no respectivo funil de separação, 20 mL de ácido sulfúrico concentrado. Os gases foram borbulhados por duas horas com borbulhamento adicional de ácido clorídrico por 30 minutos. A solução ficou em repouso por 24 horas e esta mistura reacional foi extraída com 130 mL de uma solução 10% de hidróxido de sódio.

Gotejou-se esta mistura em 38 mL de ácido clorídrico concentrado e 80 g de gelo, observando-se a precipitação de cristais brancos claros que foram filtrados à vácuo. Registrando-se faixa de fusão 114,9-115,9 °C; tempo de retenção 11,81 minutos (Método 1) e rendimentos entre 68-80%. **IV** (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3259; 2931; 1660; 1594; 1449; 1365; 1326; 1187; 1016; 1001; 895; 759; 714; 666 (Espectro 1); **EM** (IE, 70eV)  $m/z$  (%): 163 ( $M^+$ , 8); 118 (6); 105 (100); 77 (75); 58 (3); 51 (54) (Espectro 2); **RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2,07 (s, 3H); 7,34 (m, 2H); 7,47 (m, 1H); 7,78 (m, 2H); 8,95 (s, 1H) (Espectro 3); **RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  10,1; 128,2; 130,2; 132,8; 136,4; 156,8; 191,8 (Espectro 4); **RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 90** (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  128,2 (+); 130,2 (+); 132,8 (+); **RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 135** (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  10,1 (+); 128,2 (+); 130,2 (+); 132,8 (+) (Espectro 5);

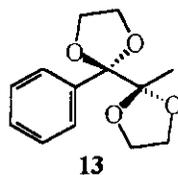
### 5.3 – SÍNTESE DE 1-FENIL-1,2-PROPANODIONA (3)<sup>6</sup>



Em um balão de duas bocas de 500 mL, colocaram-se 21,2 g (129,9 mmol) de (2E)-**8** e 146 mL de uma solução 10% de ácido sulfúrico, fazendo-se então a hidrodestilação desta mistura. Separou-se a dicetona da fase aquosa com éter (300 mL), a solução foi seca sob sulfato de magnésio anidro e o éter evaporado à pressão reduzida. Após purificação por CC com hexano, obteve-se um óleo amarelo com tempo de retenção 7,39 minutos (Método 1) e rendimentos entre 62-77%. **IV** (NaCl),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3063; 2924; 2851; 1713; 1672; 1593; 1450; 1155; 900; 697

(Espectro 6); **EM** (IE, 70eV)  $m/z$  (%): 148 ( $M^+$ , 1); 105 (95); 77 (100); 62 (1); 51 (64) (Espectro 7); **RMN de  $^1H$**  (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  2,52 (s, 3H); 7,49 (m, 2H); 7,64 (m, 1H); 8,01 (m, 2H) (Espectro 8); **RMN de  $^{13}C$**  (75 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  26,34; 128,8; 130,31; 131,7; 134,6; 191,4; 200,5 (Espectro 9); **RMN de  $^{13}C$  DEPT 90** (75 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  128,8 (+); 130,3 (+); 134,6 (+); **RMN de  $^{13}C$  DEPT 135** (75 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  26,3 (+); 128,8 (+); 130,3 (+); 134,6 (+) (Espectro 10);

#### 5.4 – SÍNTESE DE 1-FENIL-1,1,2,2-BIS-(ETILENODIOXI)-PROPANO (13)<sup>20</sup>

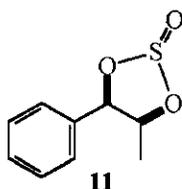


O grande interesse nesta síntese era que ocorresse somente a monoproteção na carbonila do carbono C2, porém ocorreu a dupla proteção.

A um balão de 100 mL equipado com um Dean-Stark, agitação magnética e condensador de bolas, adicionaram-se 1,005 g (6,78 mmol) de **3**, alguns cristais de ácido *p*-toluenosulfônico, 0,540 g (8,70 mmol) de etilenoglicol em 50 mL de tolueno. Esta mistura foi aquecida sob refluxo com remoção contínua de água por 12 horas. Depois de resfriada foi lavada com uma solução de bicarbonato de sódio 10%, a mistura reacional foi seca sob sulfato de magnésio anidro e o solvente evaporado à pressão reduzida. Primeira tentativa, temperatura de 140 °C, e segunda tentativa, 90 °C. Em ambas, observou-se a formação de cristais brancos, produtos de dupla proteção com rendimentos entre 4-6% que foram analisados por IV e RMN. Obteve-

se tempo de retenção 10,64 minutos (Método 2). **IV** (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3073; 3012; 2950; 2881; 1491; 1447; 1374; 1270; 1135; 1090; 989; 929; 840; 765; 703 (Espectro 11); **EM** (IE, 70eV)  $m/z$  (%): 165 (2); 149 (17); 123 (2); 105 (100); 87 (7); 77 (39); 63 (1); 43 (85) (Espectro 12); **RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,45 (s, 3H); 3,83 (m, 4H); 4,17 (m, 4H); 7,35 (m, 3H); 7,89 (m, 2H) (Espectro 13);

### 5.5 – SÍNTESE DE 4-FENIL-5-METIL-1,3,2-DIOXATIOLANO-2-ÓXIDO (11)<sup>17</sup>

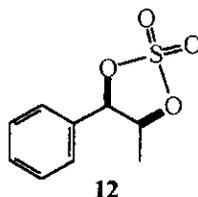


A uma solução de (1*R*,2*S*)-**6** (835 mg; 5,49 mmol; >99% e.e.) e trietilamina (~2,8 mL, 20 mmol) em diclorometano seco (20 mL) foi adicionada uma solução de cloreto de tionila (~0,55 mL; 7,5 mmol) em diclorometano (15 mL), gota a gota, por um período de 10 minutos. A agitação continuou até o término da reação acompanhada por CCD e CG com o consumo total de (1*R*,2*S*)-**6**.

A mistura foi diluída com diclorometano (50 mL), lavada com água (100 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (100 mL). A solução orgânica foi seca sob sulfato de magnésio anidro e filtrada. O filtrado foi concentrado em um rotaevaporador e purificado por CC com hexano:acetato de etila (8:2), obtendo-se uma mistura de sulfitos cíclicos diastereoisoméricos (2*R*,4*R*,5*S*)- e (2*S*,4*R*,5*S*)-**11** (~1:1) na forma de um óleo marrom pálido, com rendimentos entre 61-84% e tempo de retenção de 11,39 e 11,53 minutos (Método 1). **IV** (NaCl),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3067; 3036;

2928; 2851; 1738; 1496; 1454; 1388; 1212; 1083; 1042; 949; 908; 846; 815; 759; 702 (Espectro 14); **EM** (IE, 70eV) *m/z* (%): 154 (38); 126 (21); 117 (3); 105 (60); 91 (14); 78 (59); 64 (11); 43 (100) (Espectro 15); **RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da mistura diastereoisomérica:  $\delta$  1,00 (d;  $J = 6,6$  Hz; 3H); 1,19 (d;  $J = 6,6$  Hz; 3H); 4,96 (qi;  $J = 6,6$  Hz; 1H); 5,32 (qi;  $J = 6,6$  Hz; 1H); 5,60 (d;  $J = 6,6$  Hz; 1H); 5,87 (d;  $J = 6,6$  Hz; 1H); 7,20 (m, 2 H); 7,41 (m, 8 H) (Espectro 16); **RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da mistura de diastereoisômeros:  $\delta$  15,5; 18,4; 79,0; 81,4; 84,0; 86,8; 126,5; 126,7; 128,5; 128,6; 128,9; 133,2; 133,4 (Espectro 17); **RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 90** (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  79,0 (+); 81,4 (+); 84,0 (+); 86,8 (+); 126,5 (+); 126,7 (+); 128,5 (+); 128,6 (+); 128,9 (+); **RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 135** (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  15,5 (+); 18,4 (+); 79,0 (+); 81,4 (+); 84,0 (+); 86,8 (+); 126,5 (+); 126,7 (+); 128,5 (+); 128,6 (+); 128,9 (+) (Espectro 18).

## 5.6- SÍNTESE DE 4-FENIL-5-METIL-1,3,2-DIOXATIOLANO-2,2-DIÓXIDO (12)



**5.6.1 - Procedimento 1:**<sup>17c</sup> A uma solução de **11** (251 mg; 1,26 mmol) em acetonitrila (20 mL) e tetracloreto de carbono (20 mL) foram adicionados periodato de sódio (1,5 eq.; 406 mg; 1,89 mmol), seguido de uma quantidade catalítica de cloreto de rutênio III e água (20 mL). A mistura foi agitada por 1 hora à temperatura

ambiente até o término da reação, acompanhada por CCD com o desaparecimento do material de partida, foi registrado um cromatograma de CG do bruto da reação.

**5.6.2 - Procedimento 2:**<sup>17g</sup> A uma solução de **11** (195 mg; 0,98 mmol) em acetonitrila (10 mL) foram adicionados periodato de sódio (1,5 eq.; 316 mg; 1,48 mmol) e uma solução de cloreto de rutênio III em água (2 mL). A mistura foi agitada por 30 minutos à temperatura ambiente até desaparecimento do reagente de partida acompanhada por CCD, foi registrado um cromatograma de CG do bruto da reação.

**5.6.3 - Procedimento 3:**<sup>26</sup> A uma solução de **11** (97 mg; 0,48 mmol) em 5 mL de diclorometano, adicionou-se ácido *m*-cloroperbenzóico (86 mg; 0,5 mmol). A mistura reacional foi agitada a temperatura ambiente por 72 horas, foi retirada uma alíquota e registrado um cromatograma de CG da reação.

**5.6.4 - Procedimento 4:**<sup>17k</sup>



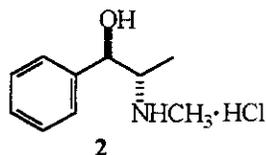
**Esquema 28**

<sup>26</sup> Block, E.; Putman, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 4072-4074;

A uma solução resfriada (0°C) sob agitação de trietilamina (12,5 eq.; 2,28 mL; 16,38 mmol) e de (1*R*,2*S*)-**6** (200 mg; 1,31 mmol; >99% e.e.) em diclorometano (22,5 mL) foi adicionado cloreto de sulforila (5 eq.; 0,53 mL; 6,55 mmol). A reação foi acompanhada por CCD e após 1 hora de reação, a mistura reacional foi lavada com água e a fase orgânica seca sob sulfato de magnésio anidro e filtrada. O filtrado foi evaporado à pressão reduzida e foi registrado um cromatograma de CG do bruto da reação. Não se observou a formação de **12**.

**5.6.5 - Procedimento 5:**<sup>17k</sup> Procedimento 4 realizado a -60°C, também com registro de um cromatograma de CG do bruto da reação. Observou-se a formação de vários subprodutos, e apenas traços de **12**.

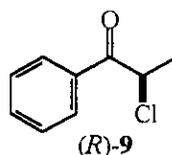
## 5.7 – SÍNTESE DO (1*R*,2*S*)-CLORIDRATO DE EFEDRINA (**2**)<sup>23</sup>



Uma solução de (*R*)-**4** (100 mg; 0,67 mmol; 96% e.e.) e metilamina 40% (257mg; 3,33 mmol) em metanol (20 mL) foi agitada sob atmosfera de H<sub>2</sub> na presença de Pd/C (10%) por 5 horas. Após este período, a mistura reacional foi filtrada e o solvente evaporado à pressão reduzida. Ao produto bruto desta reação sem prévia purificação foi borbulhado ácido clorídrico em solução etérea (50 ml), observando-se a formação de um sólido branco. Registrou-se faixa de fusão de 215,8-219,0°C e rendimentos entre 15-40%;  $[\alpha]_D^{20}$  -20,0 (c = 5,0; H<sub>2</sub>O),

{lit.<sup>23</sup>  $[\alpha]_D^{25}$  -33 a -35,5 (c = 5,0; H<sub>2</sub>O); configuração (1*R*,2*S*)}; **IV** (KBr),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3343; 2973; 2827; 2744; 1582; 1494; 1455; 1421; 1392; 1241; 1207; 1163; 1114; 1051; 988 (Espectro 19); **RMN de <sup>1</sup>H** (300 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  1,15 (d; *J* = 7,0 Hz; 3H); 2,78 (s, 3H), 3,57 (m, 1H); 5,14 (d; *J* = 3,3 Hz; 1H); 7,44 (m, 5H) (Espectro 20); **RMN de <sup>13</sup>C** (75 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  9,6; 30,5; 59,7; 71,2; 125,7; 128,1; 128,4; 138,0 (Espectro 21); **RMN de <sup>13</sup>C DEPT 90** (75 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  59,7 (+); 71,2 (+); 125,7 (+); 128,1 (+); 128,4 (+); 138,0 (+); **RMN de <sup>13</sup>C DEPT 135** (75 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  9,6 (+); 30,5 (+); 59,7 (+); 71,2 (+); 125,7 (+); 128,1 (+); 128,4 (+); 138,0 (+) (Espectro 22);

### 5.8 – SÍNTESE DE (*R*)-2-CLORO-1-FENIL-1-PROPANONA (**9**):<sup>17,27</sup>



**5.8.1 - Procedimento 1:**<sup>27a</sup> A uma solução de (*S*)-**5** (100 mg; 1 eq.; 0,67 mmol; 96% e.e.) e carbonato de cálcio anidro (1,33 mg; 2 eq.; 1,34 mmol) em éter etílico (15 mL) foi adicionado cloreto de tionila (4,75 g; 7,75 mL; 60 eq.) gota a gota a 0°C por 30 minutos. Após 4 horas de agitação à temperatura ambiente, o solvente da mistura reacional foi completamente evaporado e o produto extraído com diclorometano, não se observando a formação de (*R*)-**9**.

<sup>27</sup> a) Shoppee, C.W. *J. Chem. Soc.* **1946**, 1138; b) Mckenzie, A.; Clough, G.W. *J. Chem. Soc.* **1910**, 97, 2564;

**5.8.2 - Procedimento 2:**<sup>27b</sup> Foi adicionado cloreto de tionila (523 mg; 0,32 mL; 3,11 mmol; 5eq.) a (S)-**5** (100 mg; 0,67 mmol; 1 eq.; 96% e.e.) que foi agitado por 48 horas, não se observando a formação de (R)-**9**.

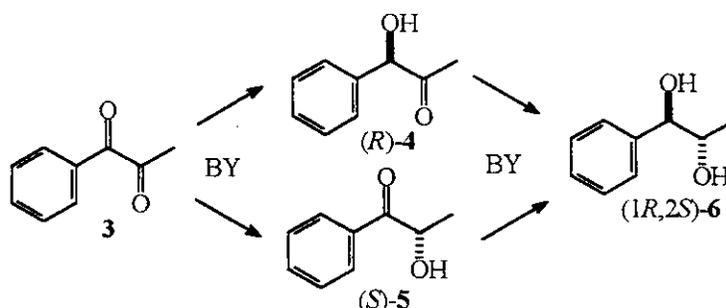
**5.8.3 - Procedimento 3:**<sup>17</sup> A uma solução de (S)-**5** (100 mg; 0,67 mmol; 1 eq.; 96% e.e.) e trietilamina (271 mg; 0,38 mL 2,68 mmol; 4 eq.) em diclorometano (5 mL) foi adicionada uma solução de cloreto de tionila (119 mg; 0,1 mL; 1,00 mmol; 1,5 eq.) gota a gota por um período de 20 minutos a 0°C. A agitação à temperatura ambiente prosseguiu por 72 horas. Ao término da reação acompanhada por CG, a mistura foi diluída com diclorometano (50 mL) e lavada com água (2 x 50 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (100 mL). A fase orgânica foi seca sob sulfato de magnésio anidro e filtrada. O filtrado foi concentrado em um rotaevaporador e o produto purificado por CCDP com hexano: acetato de etila (9:1), obtendo-se (R)-**9**, um óleo marrom, com tempo de retenção 8,62 minutos (Método 1); com rendimento de 65% e e.e. 47%;  $[\alpha]_D^{20}$  -10,0 (c = 1,0; CDCl<sub>3</sub>) {lit.<sup>28</sup>  $[\alpha]_D^{25}$  +15,2 (c = 1,0; CDCl<sub>3</sub>); (2S)} indicando a inversão parcial da configuração de C2 de (S)-**5** para (2R) em **9**; **IV** (NaCl),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3066; 2988; 2930; 2851; 1689; 1596; 1445; 1377; 1343; 1251; 1197; 1178; 1076; 1056; 998 (Espectro 23); **EM** (IE, 70eV) *m/z* (%): 105 (100); 77 (68); 55 (5); 51 (39) (Espectro 24); **RMN de <sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1,75 (d; *J* = 6,7 Hz; 3H); 5,26 (q; *J* = 6,7 Hz; 1H); 7,50 (m, 2H); 7,60 (m, 1H); 8,02 (m, 2H) (Espectro 25); **RMN de <sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  19,9; 52,7; 128,7; 129,0; 133,7;

<sup>28</sup> Sonawane, H.R.; Bellur, N.S.; Kulkarni, D.G.; Ayyangar, N.R. *Tetrahedron* 1994, 50, 1243-1260;

134,1; 193,6 (Espectro 26); **RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 90** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  52,7 (+); 128,7 (+); 129,0 (+); 133,7 (+); **RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 135** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  19,9 (+); 52,7 (+); 128,7 (+); 129,0 (+); 133,7 (+) (Espectro 27);

## 5.9 – REDUÇÕES MICROBIOLÓGICAS

### 5.9.1 – Reduções microbiológicas de (3)



**Esquema 29**

**5.9.1.1 - Procedimento 1: Redução com fermento de pão (*Saccharomyces cerevisiae*) em meio aquoso:**<sup>10a</sup> Em um erlenmeyer, mantido em banho termostático a 32 °C, foram colocados 2,0 g de fermento de pão seco em 25 mL de solução tampão de fosfato pH 3 e mantido sob agitação por 10 minutos. Em seguida, foram adicionados 125 mg de **3** (0,84 mmol) a ser reduzido, dissolvido em etanol (1-8%). Após um determinado tempo de reação, adicionaram-se 5 g de Celite a mistura reacional sob agitação e a mistura foi filtrada. O filtrado é extraído com acetato de etila (200 mL). Os produtos obtidos [(*R*)-**4**; (*S*)-**5**; (*1R,2S*)-**6**] foram purificados através de CC e CCDP com eluente hexano/acetato de etila 9:1.

**5.9.1.2 - Procedimento 2: Redução com fermento de pão (*Saccharomyces cerevisiae*) em solventes orgânicos:** Em um erlenmeyer mantido em banho termostático a 32 °C, foram colocados 2,0 g de fermento de pão seco em 25 mL de solvente orgânico (hexano, acetato de etila, éter etílico) e adicionaram-se 1,6 mL de água, gota a gota, e a mistura foi mantida sob agitação por 10 minutos. Em seguida, foram adicionados 125 mg de **3** (1,68 mmol) a ser reduzido. Após um determinado tempo de reação, adicionaram-se 5 g de Celite a mistura reacional sob agitação e a mistura foi filtrada. O filtrado é extraído com acetato de etila (200 mL). Os produtos obtidos [(*R*)-**4**; (*S*)-**5**; (1*R*,2*S*)-**6**] foram purificados através de CC e CCDP, utilizando-se hexano/acetato 9:1.

**5.9.1.3 - Estudo para obtenção seletiva de (*R*)-**4** através da biorredução de (**3**):** Foram testadas algumas condições reacionais para a redução microbiológica de **3**, a fim de se obter (*R*)-**4**, seletivamente. Tanto utilizando-se o Procedimento 1 e Procedimento 2, como também a utilização de possíveis inibidores para a formação de (*S*)-**5** e (1*R*,2*S*)-**6**. Para o Procedimento 1, fez-se utilização de borbulhamento de gases (N<sub>2</sub>, Ar e O<sub>2</sub>), além da utilização de etilenoglicol e benzaldeído como possíveis inibidores da redução. Para o Procedimento 2, utilizaram-se alguns solventes orgânicos para se observar uma possível diferenciação na obtenção de (*R*)-**4** em relação à (*S*)-**5** (Tabela 10).

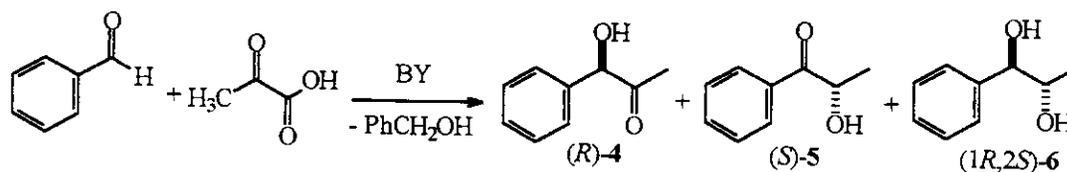
**Tabela 10: Combinações experimentais para biorredução de 3 mediada por fermento de pão**

Entrada	Procedimento	Aditivo ou Solvente	Tempo de reação (horas)
1	2	Hexano	3
2	2	éter de petróleo	3
3	2	éter etílico	3
4	2	hexano/AcOEt 5%	3
5	2	hexano/AcOEt 10%	3
6	2	hexano/etilenoglicol <sup>a</sup>	3
7	1	-	2
8	1	etilenoglicol <sup>a</sup>	2
9	1	N <sub>2</sub>	2
10	1	N <sub>2</sub> /etilenoglicol <sup>a</sup>	2
11	1	N <sub>2</sub> /O <sub>2</sub>	2
12	1	Ar	2
13	1	benzaldeído <sup>b</sup>	1

<sup>a</sup> Adição de 2,5 mL de etilenoglicol ao meio reacional; <sup>b</sup> Mesmas condições experimentais descritos no Procedimento 1, com a seguinte alteração: utilização de 50 mg de 3 e adição de 100 mg de benzaldeído.

Os gases utilizados nas entradas 9-12 foram borbulhados por vinte minutos no meio reacional antes da adição de 3. Para a entrada 11, vinte minutos de borbulhamento de nitrogênio seguido de mais vinte minutos de oxigênio. Para as entradas 6, 8 e 10 foram utilizados 5 mL de etilenoglicol.

#### 5.9.1.4 - Procedimento 3: Condensação aciloínica de Benzaldeído e Ácido Pirúvico:<sup>12</sup>



**Esquema 30**

A 25 mL de água foram adicionados 6,25 g de fermento de pão seco e 5 g de glicose. Esta mistura foi agitada à temperatura ambiente por 10 minutos.

Então uma solução de benzaldeído (300 mg; 2,82 mmol) em etanol (1 mL) foi adicionada à suspensão fermentativa sob agitação. Após uma hora, 3,1 g de fermento de pão seco e 2,5 g de glicose foram adicionados à mistura reacional, mantida sob agitação por 3,5 horas (Tabela 11).

A mistura reacional foi filtrada a vácuo com 20 g de Celite e extraída com acetato de etila (100 mL). A fase orgânica foi seca sob sulfato de magnésio anidro, e o solvente evaporado sob pressão reduzida.

*Tabela 11: Condensação aciloínica de benzaldeído com ácido pirúvico mediada por fermento de pão*

<i>Entrada</i>	<i>Método</i>	<i>Aditivo</i>	<i>Tempo de reação (horas)</i>
1	3	-	4,5
2	3	acetaldeído <sup>a</sup>	4,5

<sup>a</sup> Mesmas condições do método 3 com adição de 300 mg de acetaldeído

#### 5.9.1.5 - Estudo cinético da redução enantiosseletiva de 3, 4 e 5 através do acompanhamento da evolução das reações:

Primeiramente, fez-se um estudo semi-qualitativo da influência do pH na redução de 1 em pH 4 (Figura 1) e pH 3 (Figura 2), observando-se a evolução da formação dos produtos desta redução. Em um erlenmeyer, mantido em banho termostaticado a 32 °C, foram colocados 21 g de fermento de pão seco em 50 mL de solução tampão de fosfato ( $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$ ; 0,5 mol.L<sup>-1</sup>). Em seguida, foram adicionados 500 mg de 3, a ser reduzido, dissolvido em etanol (1 mL). A cada 5 minutos, foi retirada uma alíquota da redução e extraída com acetato de etila, e 1 µL desta solução resultante foi injetada em um cromatógrafo a gás.

Através da utilização da 2-fluorobifenila, como padrão interno das amostras retiradas do meio reacional na análise por CG/EM, fez-se o acompanhamento da redução microbiológica de **3** mediada por fermento de pão, utilizando-se algumas condições reacionais: aeróbia (Figura 3); anaeróbia, com borbulhamento de nitrogênio (20 minutos) (Figura 4); borbulhamento de nitrogênio (20 minutos) seguido de oxigênio (20 minutos) (Figura 6); borbulhamento de nitrogênio (60 minutos) seguido de oxigênio (20 minutos) (Figura 7), e borbulhamento de nitrogênio (6 horas) seguido de oxigênio (20 minutos) (Figura 8). A redução de (*R*)-**4** e (*S*)-**5** em condições aeróbias e anaeróbias (borbulhamento de nitrogênio por 20 minutos) (Figura 5) também foram acompanhadas.

Amostras de **3**, (*R*)-**4**, (*S*)-**5**, (*1R,2S*)-**6** e da 2-fluorobifenila de massas conhecidas foram injetadas para calibração dos fatores de resposta de cada composto em relação ao padrão interno perante o detector do cromatógrafo.

**Tabela 12:** Fatores de resposta de **3**, (*R*)-**4**, (*S*)-**5** e (*1R,2S*)-**6**

<i>Composto</i>	<i>Tempo de retenção (minutos)<sup>a</sup></i>	<i>Fator de resposta</i>
<b>3</b>	6,67	0,4168
<b>4</b>	7,67	0,2166
<b>5</b>	8,12	0,2792
<b>6</b>	9,07	0,4086
<b>2-fluorobifenila</b>	9,64	-

<sup>a</sup> Método 4

Em um erlenmeyer, mantido em banho termostaticado a 32 °C, foram colocados 4,0 g de fermento de pão seco em 50 mL de solução tampão de fosfato pH 3 e mantido sob agitação por 10 minutos. Em seguida, foram adicionados 250 mg do substrato [**3**; (*R*)-**4** ou (*S*)-**5**] a ser reduzido, dissolvido em etanol (1 mL).

A cada 30 minutos, foi retirada uma alíquota da redução (1 mL) e extraída com acetato de etila (6 mL). O solvente foi evaporado e 1 mL de uma solução padrão de 2-fluorobifenila (0,1 mg/mL) foi adicionado, e 1  $\mu$ L desta solução resultante foi injetada em um cromatógrafo a gás. O acompanhamento da redução de cada composto [3; (R)-4 e (S)-5] foi realizado em condições aeróbias e anaeróbias (20 minutos de borbulhamento de nitrogênio antes da adição do substrato).

#### **5.9.1.6 - Estudo do efeito do açúcar na seletividade da redução microbiológica de (3):<sup>10</sup>**

Para a observação do efeito da presença do açúcar na redução de 3 foram testadas algumas concentrações de açúcar no meio reacional.

Em um erlenmeyer, mantido termostatizado a 32 °C, foram colocados 4,0 g de fermento de pão seco e açúcar (em quantidades diferentes) em 200 mL de água e mantido sob agitação por 1 hora. Em seguida, foram adicionados 200 mg de 3 (1,35 mmol) em etanol (1 mL). Após 1 hora de reação, adicionam-se 5 g de Celite à mistura reacional sob agitação e a mistura foi filtrada. O filtrado é extraído com acetato de etila (200 mL). Os produtos obtidos [(R)-4; (S)-5; (1R,2S)-6] foram purificados através de CC e CCDP com eluente hexano/acetato de etila 9:1.

### **5.9.1.7 - Estudo do efeito da utilização da resina XAD-7 na seletividade e no rendimento da redução microbiológica de 3):**

Para a observação do efeito da presença do açúcar, utilização da resina XAD-7 e condição anaeróbia na redução de 3 foram testadas algumas condições reacionais. Em um erlenmeyer, mantido termostatizado a 30 °C, foram colocados 4,0 g de fermento de pão seco em 200 mL de água e mantido sob agitação por 1 hora. Em seguida, foram adicionados 200 mg de 3 (1,35 mmol) em etanol (1 mL). Nos experimentos que utilizam açúcar, foram adicionados 4 g de açúcar antes do período de agitação de 1 hora. Nos experimentos anaeróbios, o nitrogênio foi borbulhado por 20 minutos depois da adição de açúcar. E para utilização da resina XAD-7 (3 g), o substrato 3 (200 mg) foi adsorvido à mesma antes da sua adição ao meio reacional. Após 1 hora de reação, os produtos foram isolados e purificados através de CC e CCDP com eluente hexano/acetato de etila 9:1.

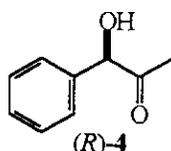
### **5.9.1.8 - Estudo cinético da redução enantiosseletiva de 3, utilizando-se atmosfera inerte e açúcar:**

Através da utilização da 2-fluorobifenila como padrão interno das amostras retiradas do meio reacional na análise por CG/EM, fez-se o acompanhamento da redução microbiológica de 3 para se observar qual o efeito da atmosfera inerte e do açúcar.

Em um erlenmeyer, mantido em banho termostatizado a 32 °C, foram colocados 4,0 g de fermento de pão seco e 5 g de açúcar em 200 mL de água e mantido sob agitação por 40 minutos. Em seguida foi borbulhado argônio por

20 minutos e foi adicionado **3** (250 mg) dissolvido em etanol (1 mL). A cada 30 minutos, foi retirada uma alíquota da redução (1 mL), extraída com acetato de etila (6 mL). O solvente foi evaporado e 1 mL de uma solução padrão de 2-fluorobifenila (0,1 mg/mL) foi adicionado, e 1  $\mu$ L desta solução resultante foi injetada em um cromatógrafo a gás.

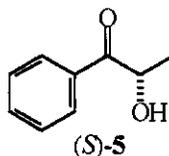
### 5.9.2 - Obtenção de (*R*)-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (**4**):



Para obtenção de (*R*)-**4**, escolheu-se a condição reacional de borbulhamento de nitrogênio (20 minutos) seguido de oxigênio (20 minutos). Após 2 horas de reação, adiciona-se 5 g de Celite a mistura reacional sob agitação e filtra-se. O filtrado foi extraído com acetato de etila (200 mL), seco sob sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado sob pressão reduzida. Obtendo-se (*R*)-**4** que foi purificado por CCDP, utilizando-se hexano/acetato 9:1; para dar um óleo transparente de tempo de retenção 7,50 minutos (Método 1); (*R*) 8,60 e (*S*) 9,13 minutos (Método 3); com rendimento de 21%;  $[\alpha]_D^{25}$  -198,1 ( $c = 1,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ) {lit.<sup>2b</sup>  $[\alpha]_D^{22}$  -408,7 ( $c = 1,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ )}; configuração absoluta (1*R*) e e.e. 96%; **IV** (NaCl),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3454; 3067; 3036; 2923; 2856; 1713; 1491; 1450; 1357; 1223; 1176; 1089; 1064; 749; 698 (Espectro 28); **EM** (IE, 70eV)  $m/z$  (%): 107 (67); 79 (100); 43 (54) (Espectro 29); **RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2,08 (s, 3 H); 3,88 (l, 1 H); 5,09 (s, 1 H); 7,34 (m, 5 H) (Espectro 30); **RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  25,3; 80,1; 127,2; 128,6; 128,9;

137,8; 206,8 (Espectro 31); **RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 90** (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  80,1 (+); 127,2 (+); 128,6 (+); 128,9 (+); **RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 135** (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  25,3 (+); 80,1 (+); 127,2 (+); 128,6 (+); 128,9 (+) (Espectro 32);

### 5.9.3 - Obtenção de (S)-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (5):<sup>10c</sup>



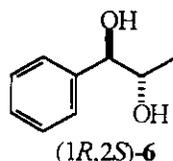
Em um erlenmeyer (125 ml), 4 g de fermento de pão seco foram suspensos em 40 mL de uma solução tampão de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  pH 7 (50 mmol/L), mantido sob agitação a 53 °C por 1 hora, e em seguida, metilvinilcetona (150 mg) foi adicionada.

A mistura reacional foi mantida sob agitação a 30°C por 30 minutos e, em seguida, **3** (120 mg; 0,81 mmol) em etanol (3 ml) foi adicionado e a reação foi mantida sob agitação por 5 horas a 30°C. Após o término da reação, adicionam-se 5 g de Celite à mistura reacional sob agitação e filtra-se.

O filtrado foi extraído com acetato de etila (200 mL), seco sob sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado sob pressão reduzida, obtendo-se (S)-5, purificado por CCDP com hexano/acetato de etila 9:1, na forma de um óleo marrom pastoso de tempo de retenção 8,03 minutos (Método 1); 14,63 e 15,19 (Método 5); com rendimentos entre 45-68%;  $[\alpha]_D^{20}$  -139,5 ( $c = 6,7$ ;  $\text{CHCl}_3$ ), {lit.<sup>10b</sup>  $[\alpha]_D^{24}$  -92,0 ( $c = 6,7$ ;  $\text{CHCl}_3$ )}; configuração absoluta (2S) e e.e. 96%; **IV** (NaCl),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3480; 2990; 2928; 2856; 1687; 1450; 1367; 1259; 1135; 1069; 1012; 965; 898 (Espectro 33); **EM** (IE, 70eV)  $m/z$  (%): 150 ( $\text{M}^+$ , 0); 105 (100); 77 (51); 51 (34) (Espectro 34);

**RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,46 (d;  $J = 7,0$  Hz; 3H); 3,81 (d;  $J = 6,2$  Hz; 1H); 5,17 (dq;  $J = 6,2$  Hz; 7,0 Hz; 1 H); 7,51 (m, 2H); 7,63 (m, 1H); 7,93 (m, 2H) (Espectro 35); **RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3/\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  1,46 (d;  $J = 7,0$  Hz; 3H); 5,16 (q;  $J = 7,0$  Hz; 1H); 7,51 (m, 2H); 7,63 (m, 1H); 7,93 (m, 2H) (Espectro 36); **RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  22,8; 69,7; 129,0; 129,2; 133,6; 134,3; 202,5 (Espectro 37); **RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 90** (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  69,7 (+); 129,0 (+); 129,2 (+); 134,3 (+); **RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 135** (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  22,8 (+); 69,7 (+); 129,0 (+); 129,2 (+); 134,3 (+) (Espectro 38).

#### 5.9.4 - Obtenção de (1*R*,2*S*)-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (6)

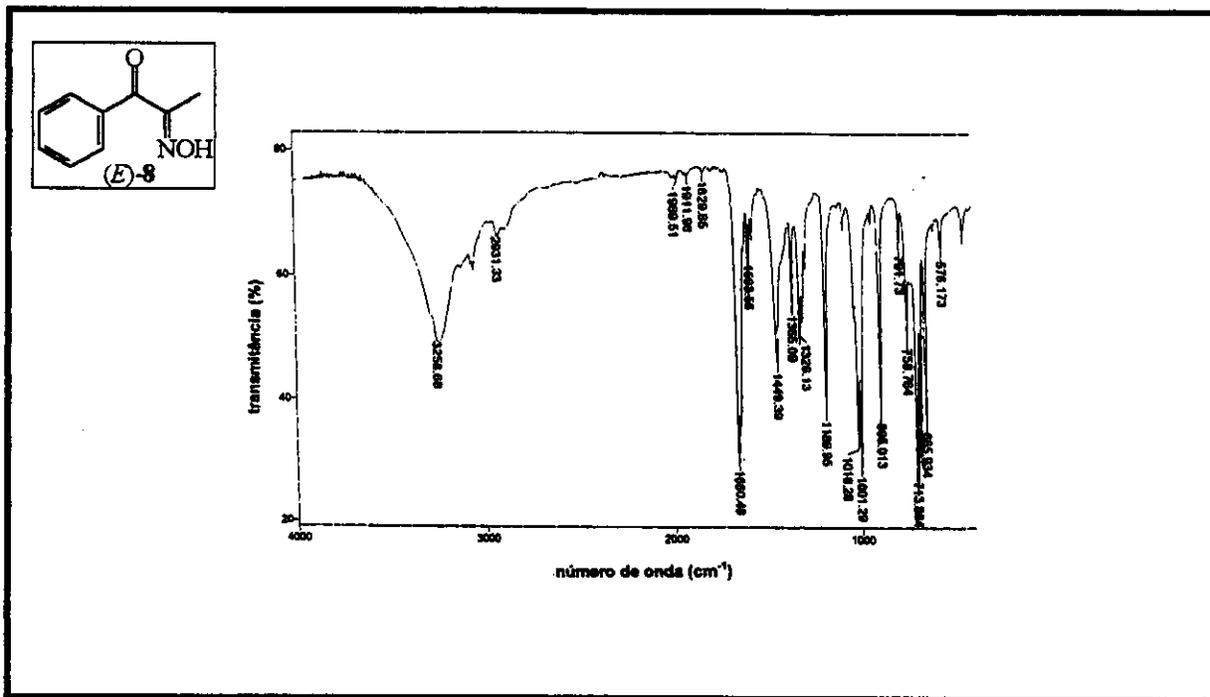


Para obtenção de (1*R*,2*S*)-6, escolheu-se a condição reacional que utiliza o borbulhamento de nitrogênio (20 minutos) seguido de oxigênio (20 minutos). Após 4 horas de reação, adicionaram-se 5 g de Celite a mistura reacional sob agitação e a mistura foi filtrada. O filtrado foi extraído com acetato de etila (200 mL), seco sob sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado sob pressão reduzida, obtendo-se (1*R*,2*S*)-6, purificado por CCDP com hexano/acetato de etila 9:1, um óleo amarelo pálido, com tempo de retenção de 9,91 minutos (Método 1); 13,66 (Método 3) e rendimentos entre 74-97%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  -39,0 ( $c = 3,2$ ;  $\text{CHCl}_3$ ), {lit.<sup>2b</sup>  $[\alpha]_{\text{D}}^{21}$  -38,6 ( $c = 3,2$ ;  $\text{CHCl}_3$ ); configuração absoluta (1*R*,2*S*)}; e e.e. >99%; IV (NaCl),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3387; 3067;

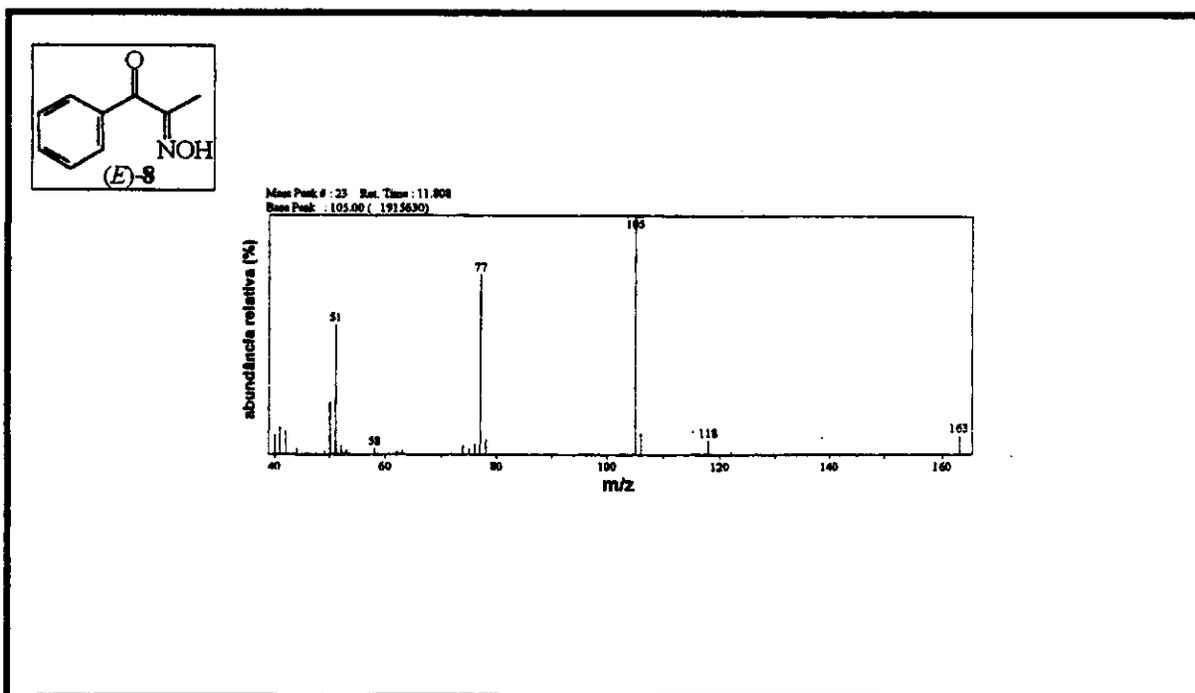
---

3030; 2978; 2931; 1494; 1452; 1259; 1078; 993 (Espectro 39); **EM** (IE, 70eV)  $m/z$  (%): 117 (1); 108 (67); 91 (8); 79 (100); 63 (5); 45 (35) (Espectro 40); **RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,94 (d;  $J = 6,2$  Hz; 3H); 2,63 (l, 1H); 3,16 (l, 1H); 3,86 (dq;  $J = 4,0$  Hz; 6,2 Hz; 1H); 4,54 (d;  $J = 4,0$  Hz; 1H); 7,22 (m, 5H) (Espectro 41); **RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  17,0; 71,3; 77,4; 126,4; 127,5; 128,1; 140,1 (Espectro 42); **RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 90** (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  71,3 (+); 77,4 (+); 126,4 (+); 127,5 (+); 128,1 (+); **RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 135** (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  17,0 (+); 71,3 (+); 77,4 (+); 126,4 (+); 127,5 (+); 128,1 (+) (Espectro 43).

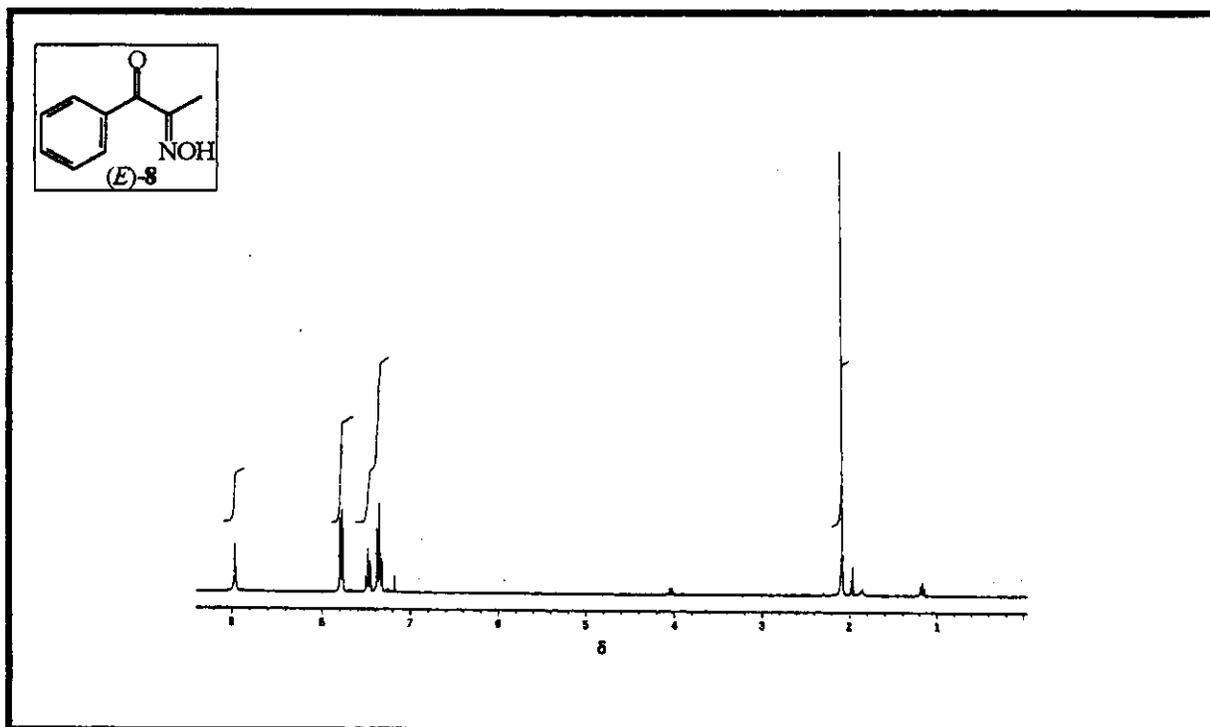
## 6- ESPECTROS



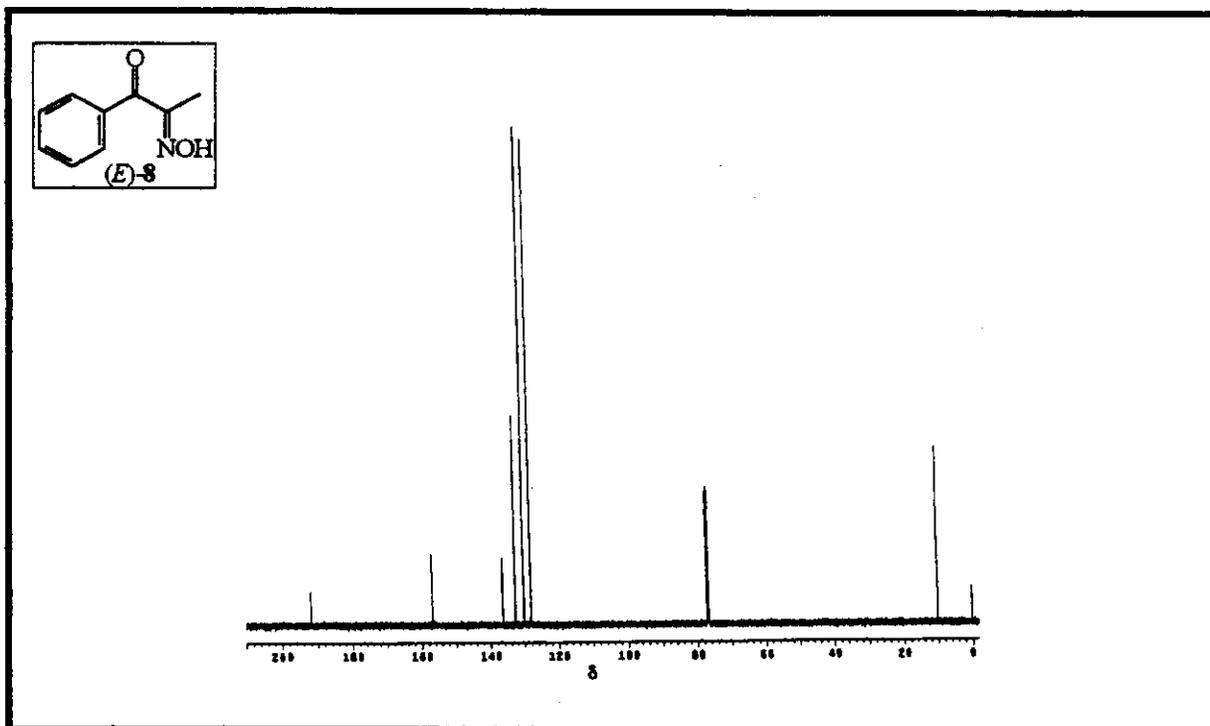
Espectro 1: IV (filme) da (E)-1-fenil-1,2-propanodiona 2-oxima (8)



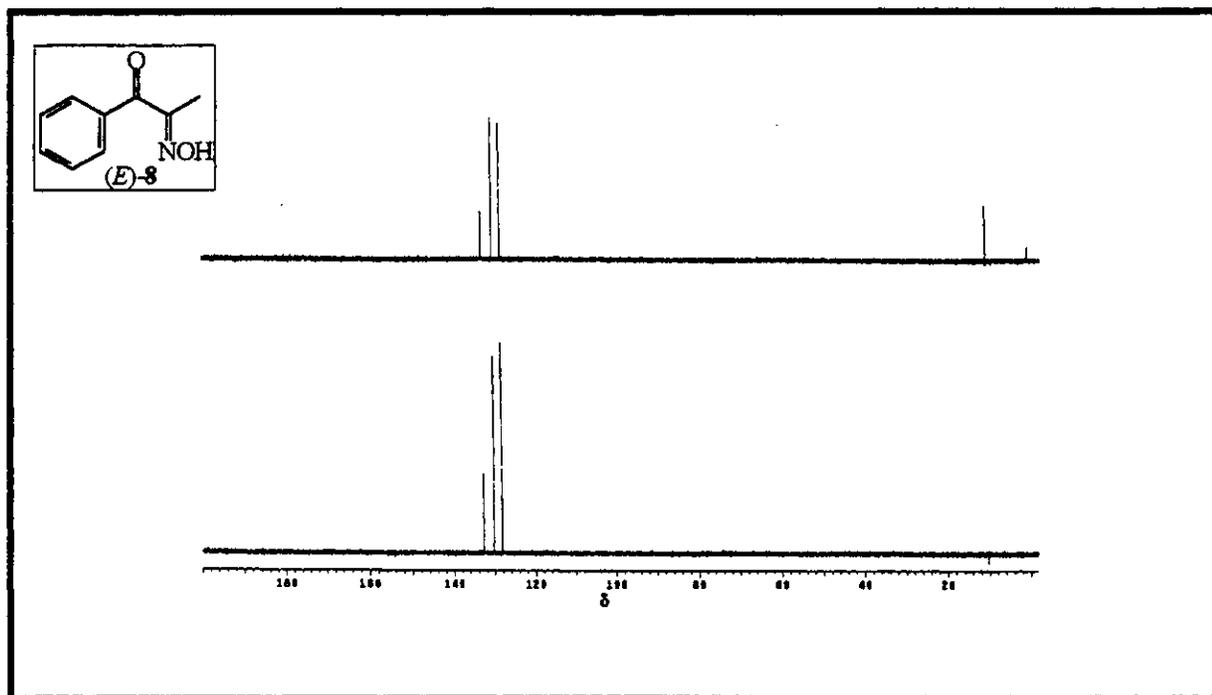
Espectro 2: EM da (E)-1-fenil-1,2-propanodiona 2-oxima (8)



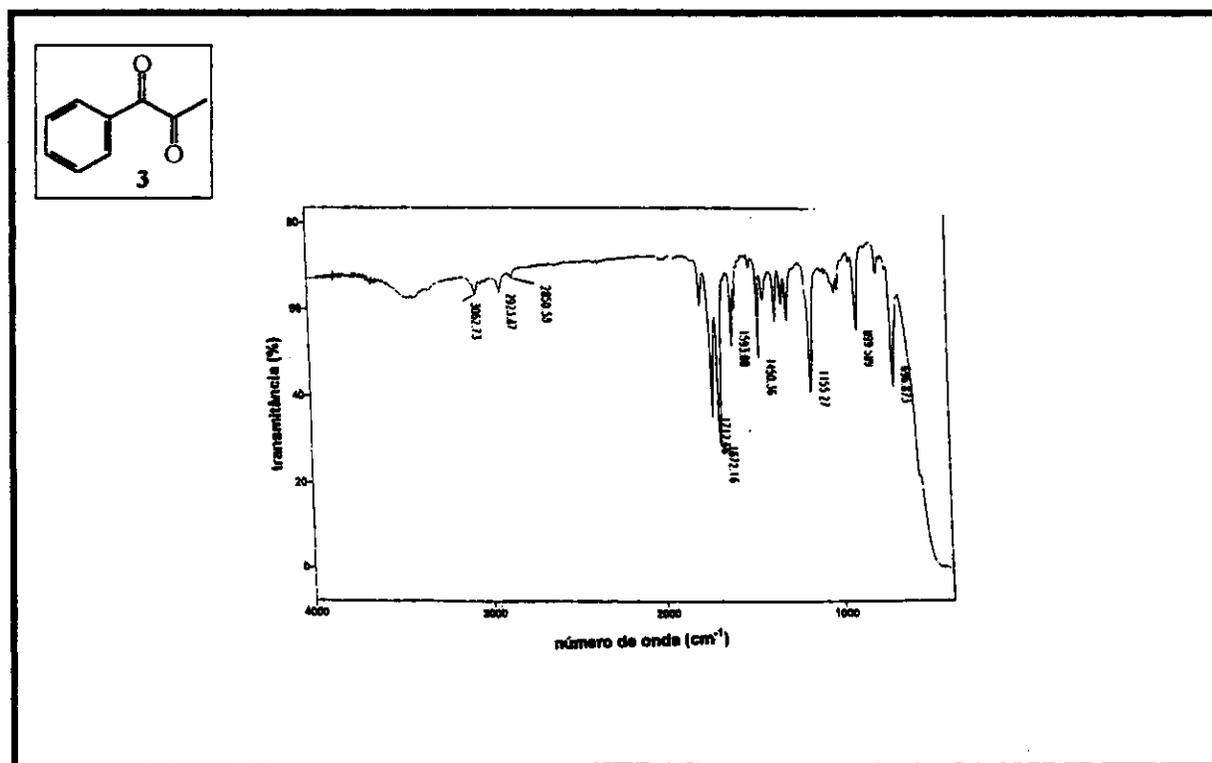
Espectro 3: RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) da (E)-1-fenil-1,2-propanodiona 2-oxima (8)



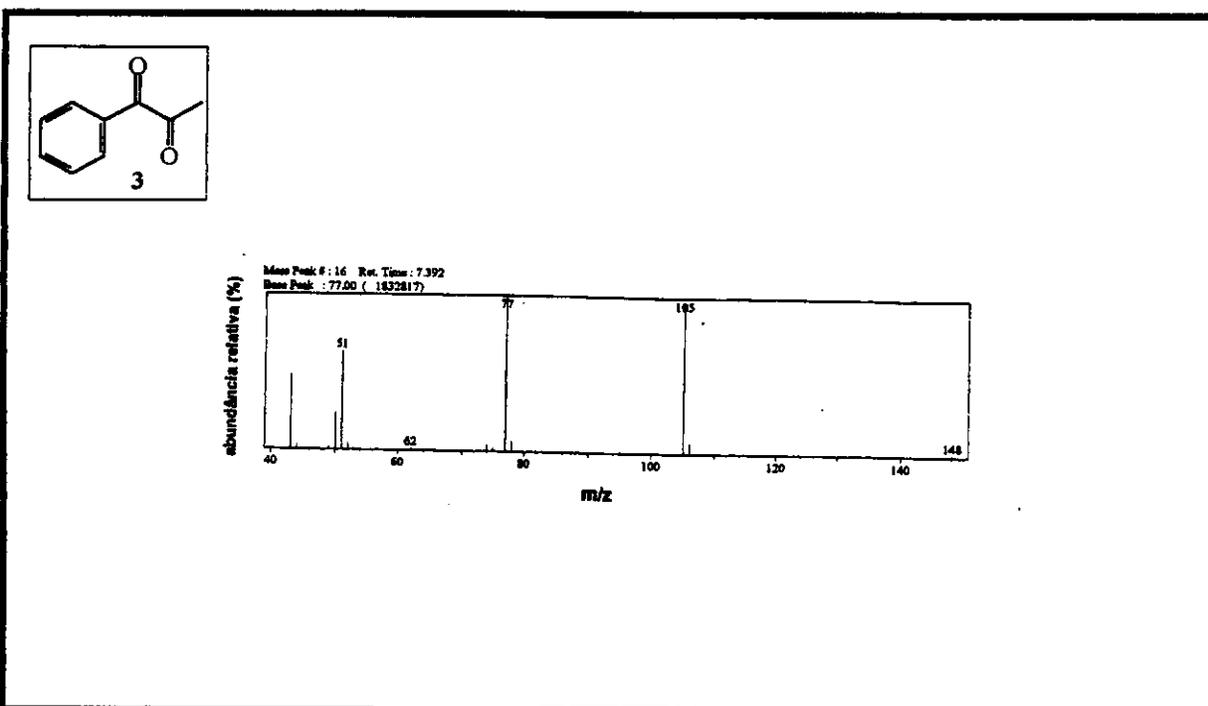
Espectro 4: RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) da (E)-1-fenil-1,2-propanodiona 2-oxima (8)



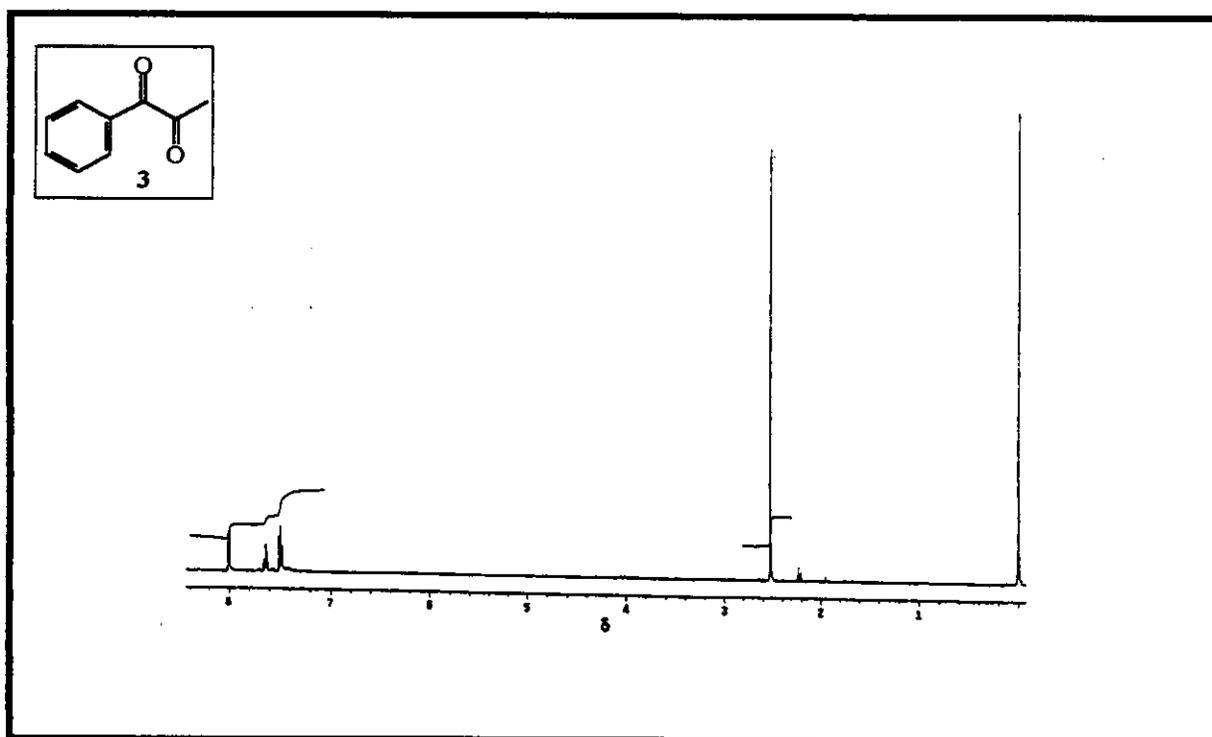
**Espectro 5:** RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 90 e 135 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da (*E*)-1-fenil-1,2-propanodiona 2-oxima (8)



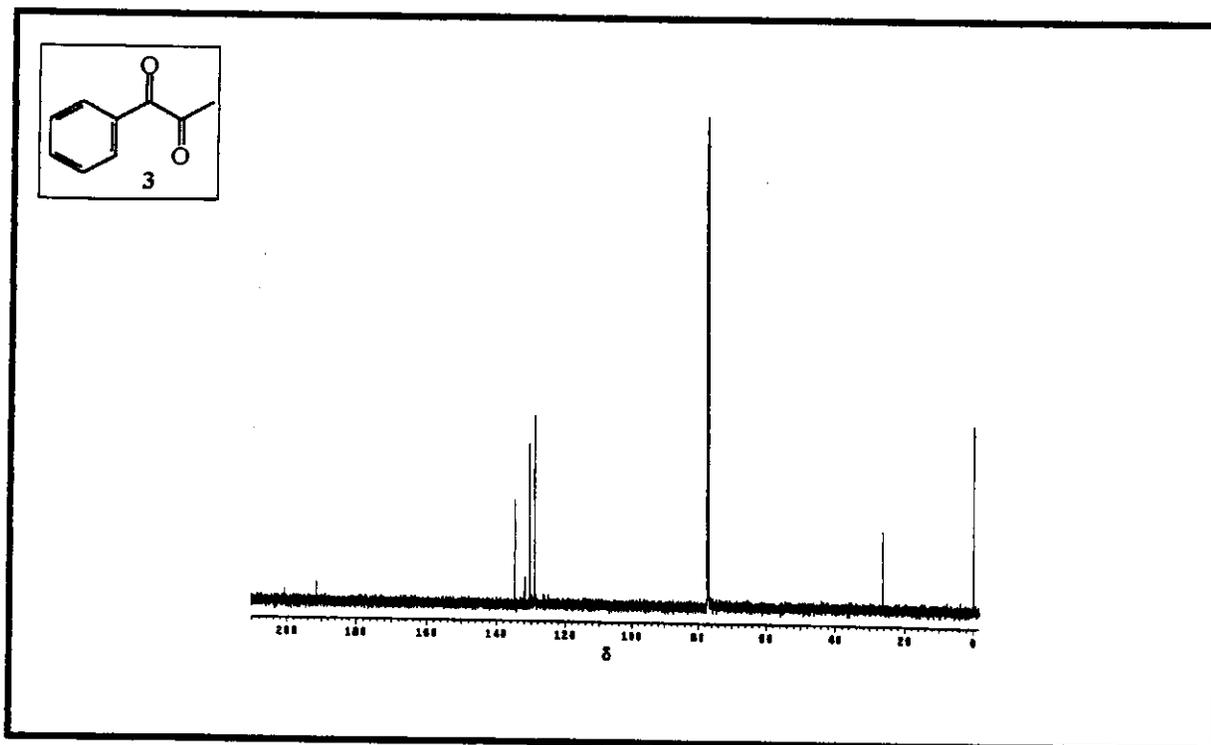
**Espectro 6:** IV (filme) da 1-fenil-1,2-propanodiona (3)



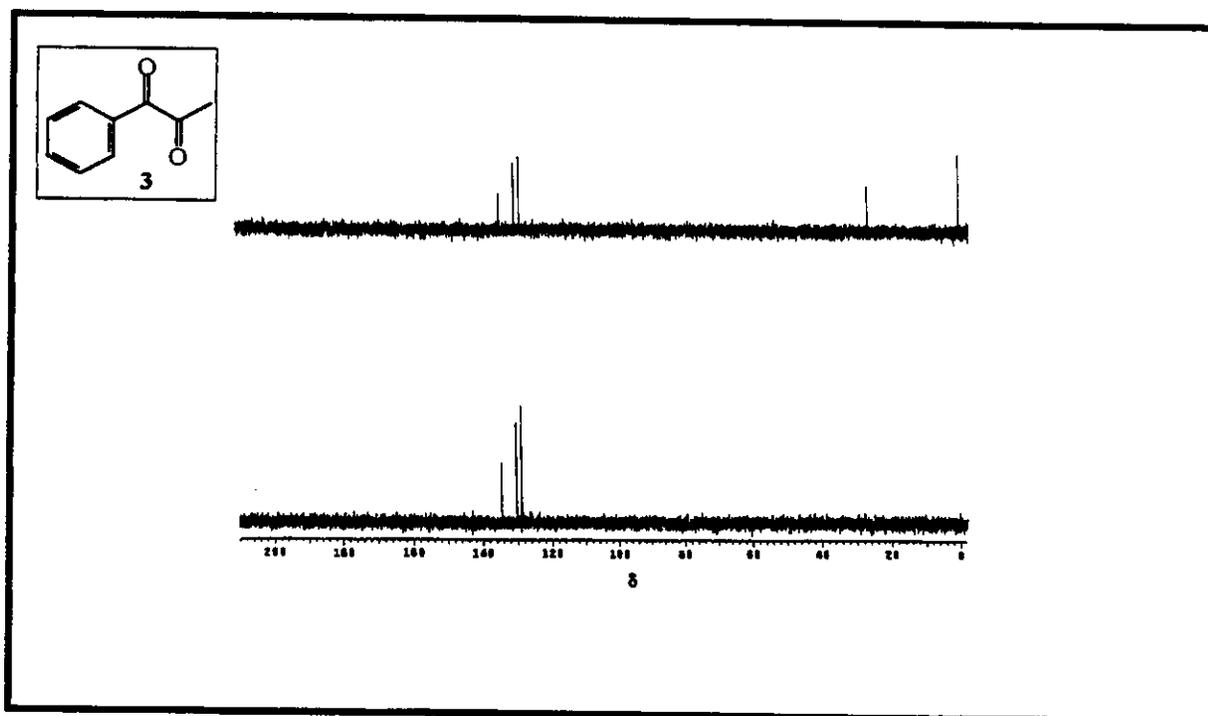
**Espectro 7: EM da 1-fenil-1,2-propanodiona (3)**



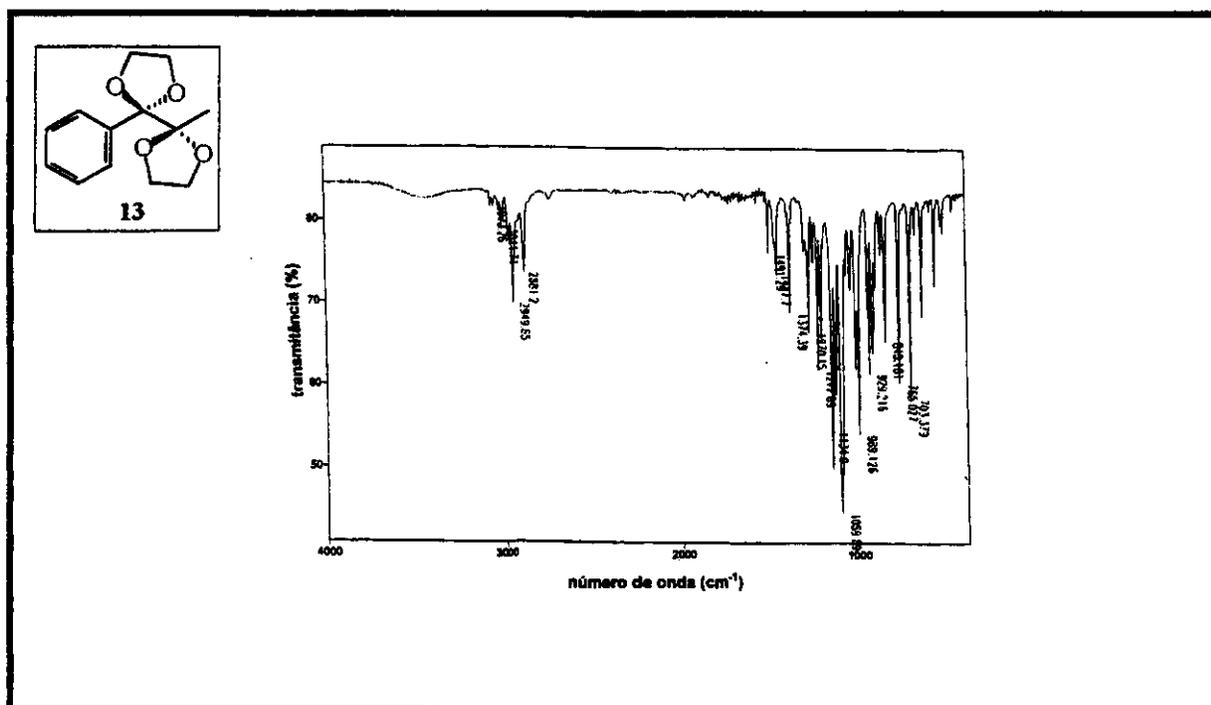
**Espectro 8: RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da 1-fenil-1,2-propanodiona (3)**



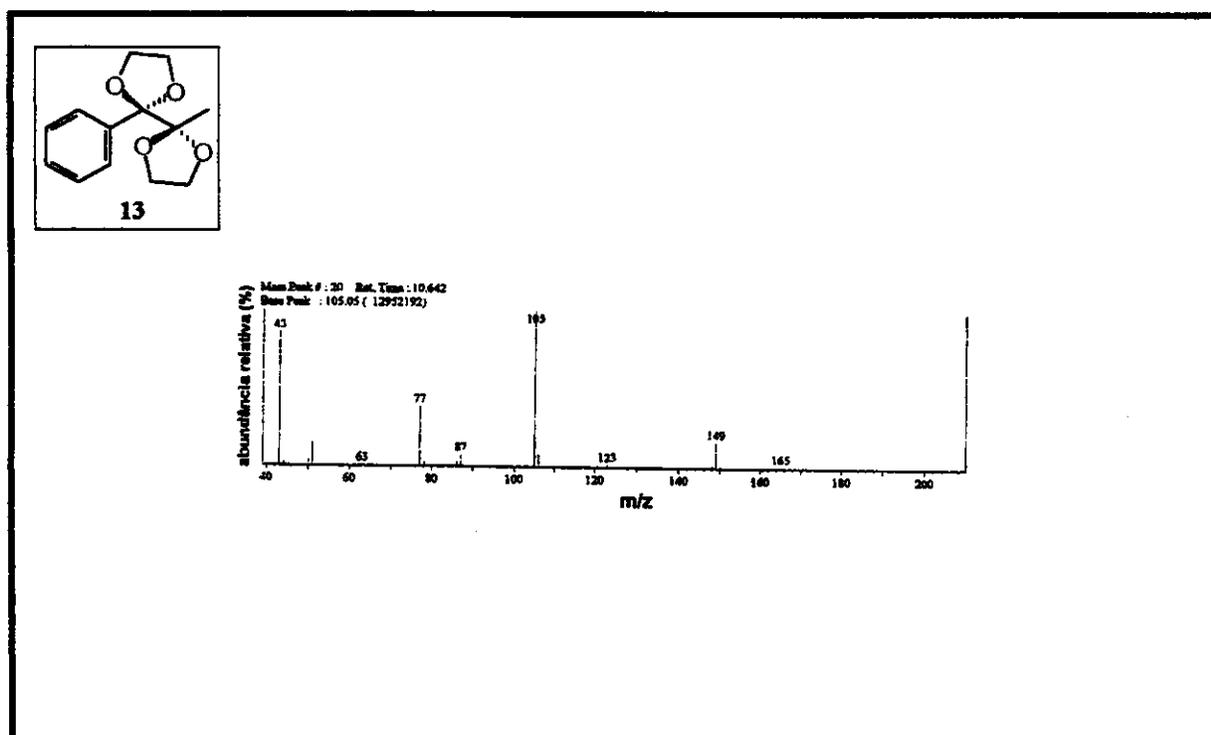
Espectro 9: RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da 1-fenil-1,2-propanodiona (3)



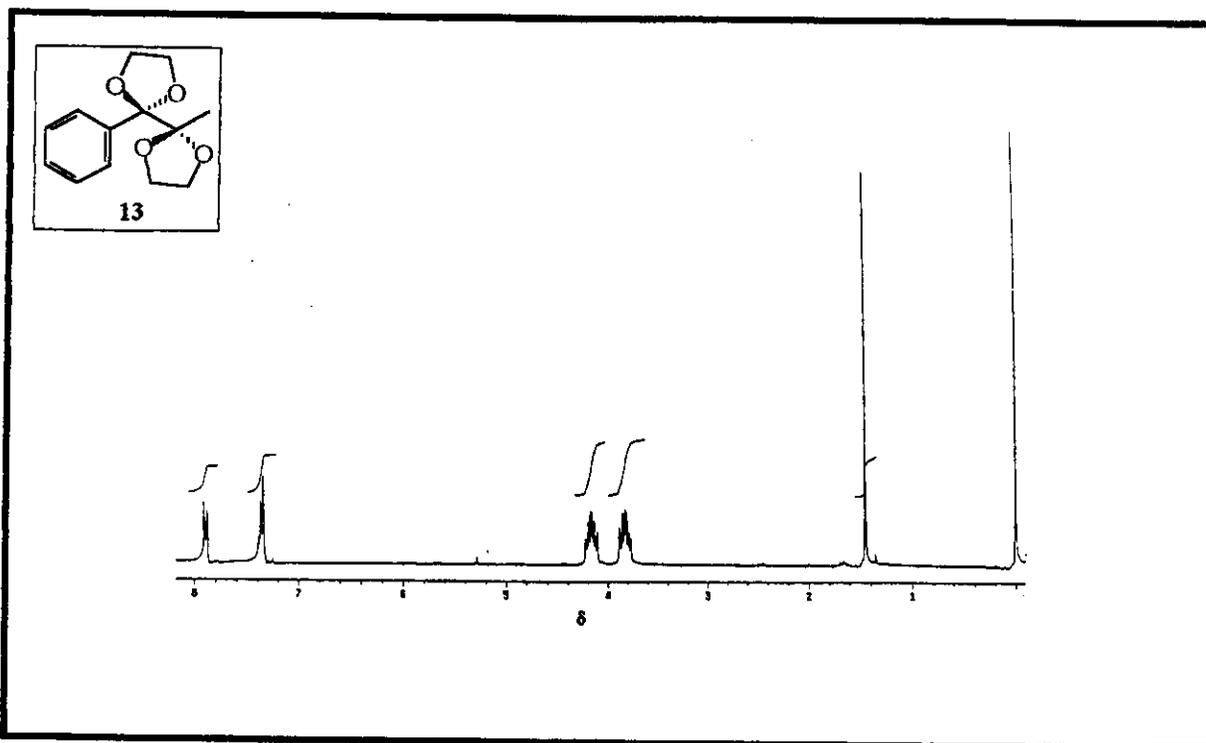
Espectro 10: RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 90 e 135 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da 1-fenil-1,2-propanodiona (3)



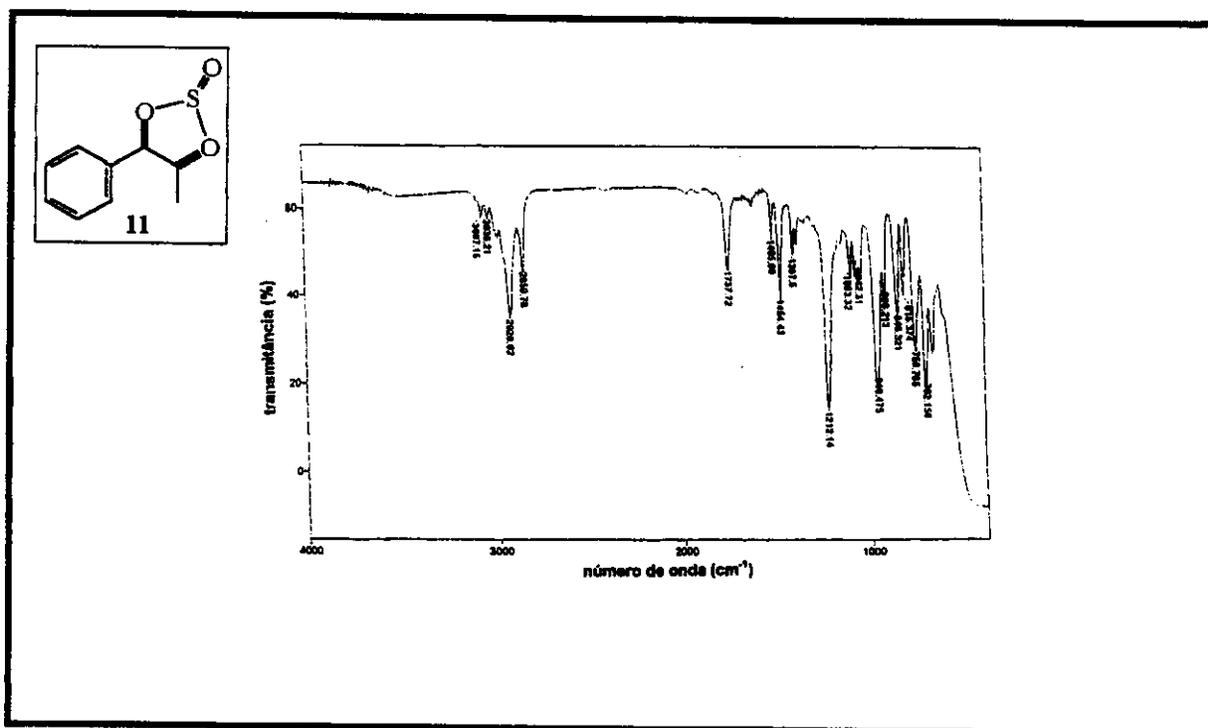
Espectro 11: IV (KBr) do 1-fenil-1,1,2,2-bis-(etilenodiox)-propano (13)



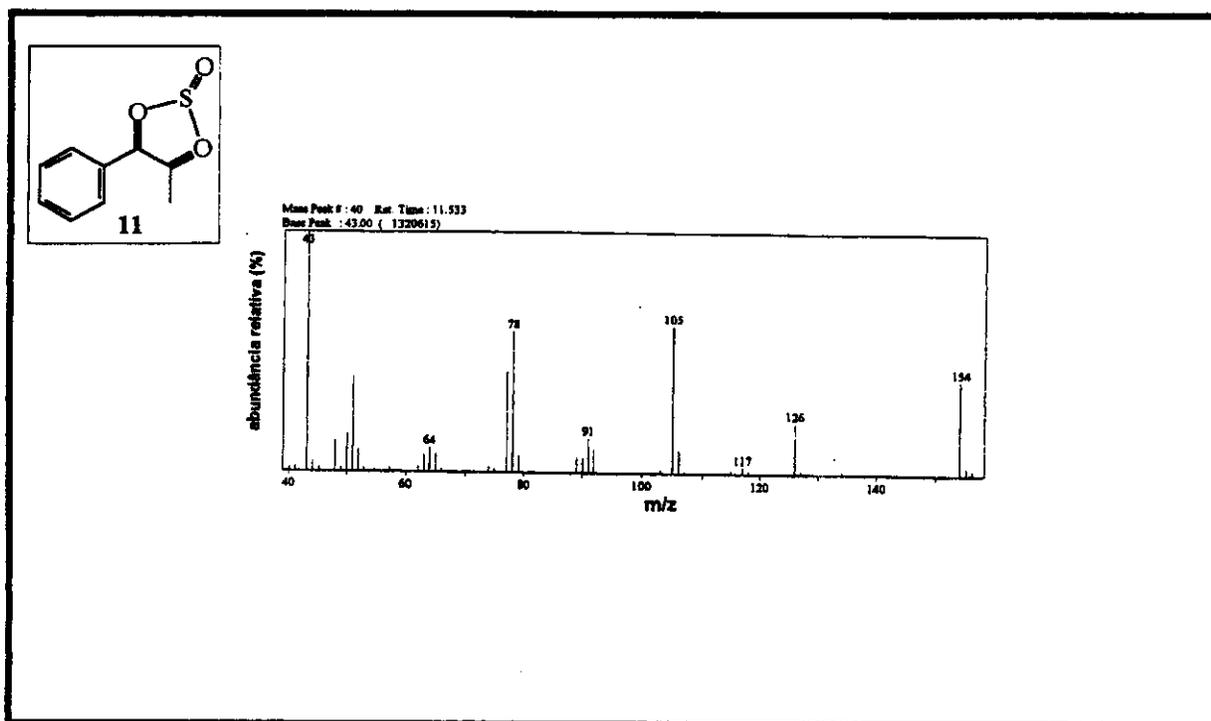
Espectro 12: EM do 1-fenil-1,1,2,2-bis-(etilenodiox)-propano (13)



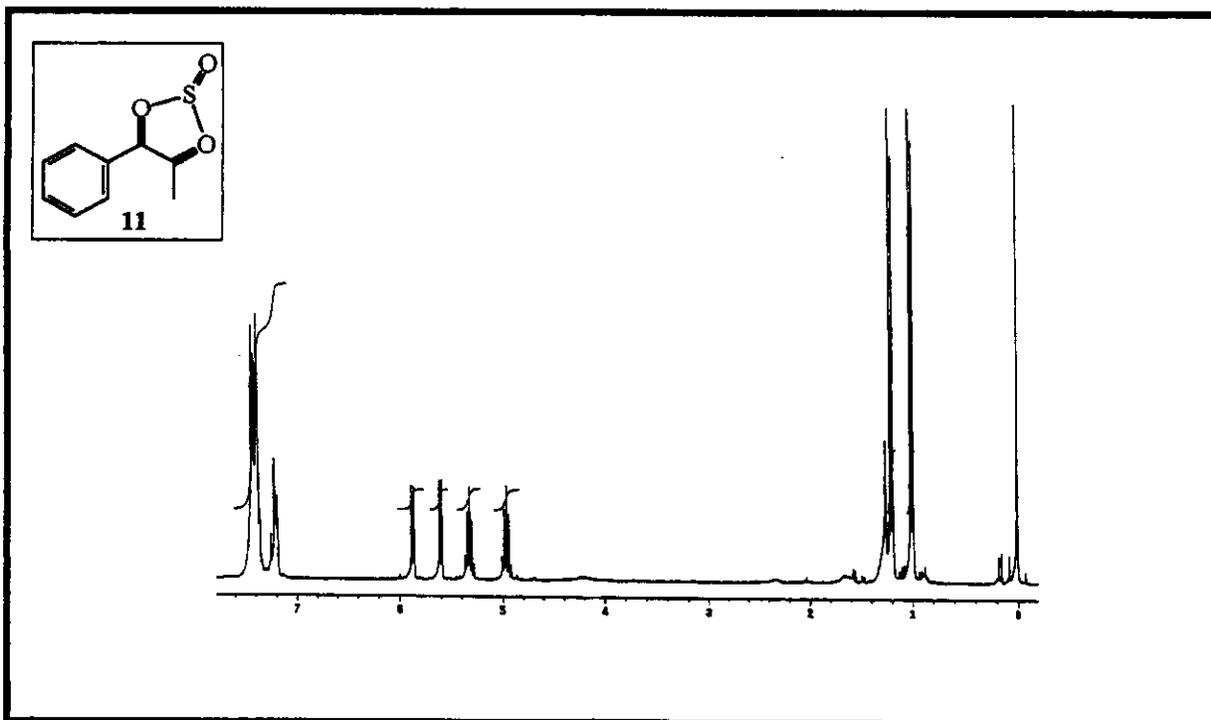
**Espectro 13:** RMN de <sup>1</sup>H (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do 1-fenil-1,1,2,2-bis-(etilenodioxo)-propano (13)



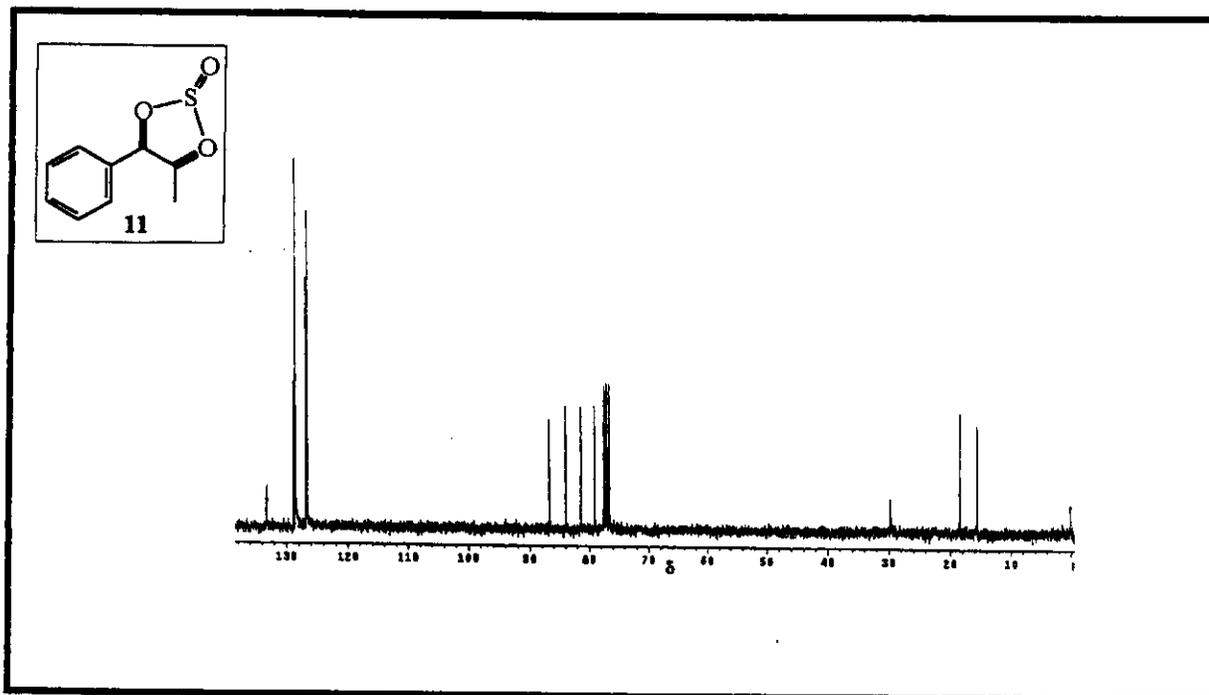
**Espectro 14:** IV (filme) do 4-fenil-5-metil-1,3,2-dioxatiolano-2-óxido (11)



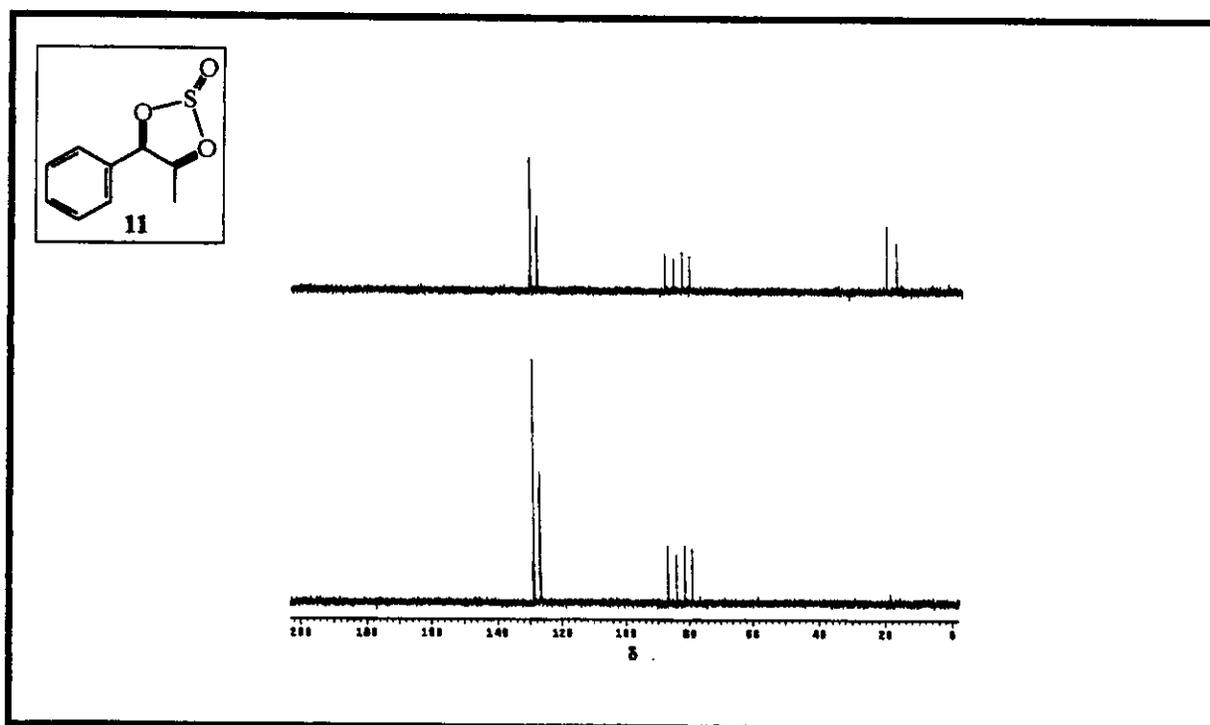
**Espectro 15: EM do 4-fenil-5-metil-1,3,2-dioxatiolano-2-óxido (11)**



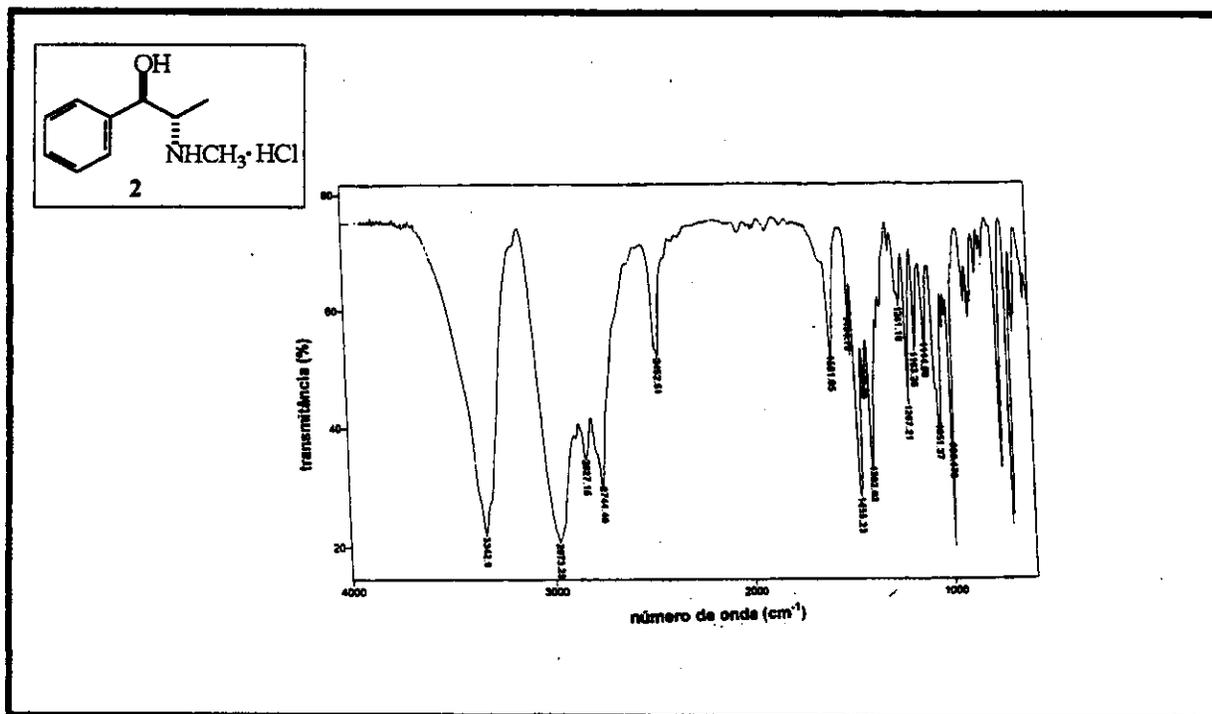
**Espectro 16: RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 4-fenil-5-metil-1,3,2-dioxatiolano-2-óxido (11)**



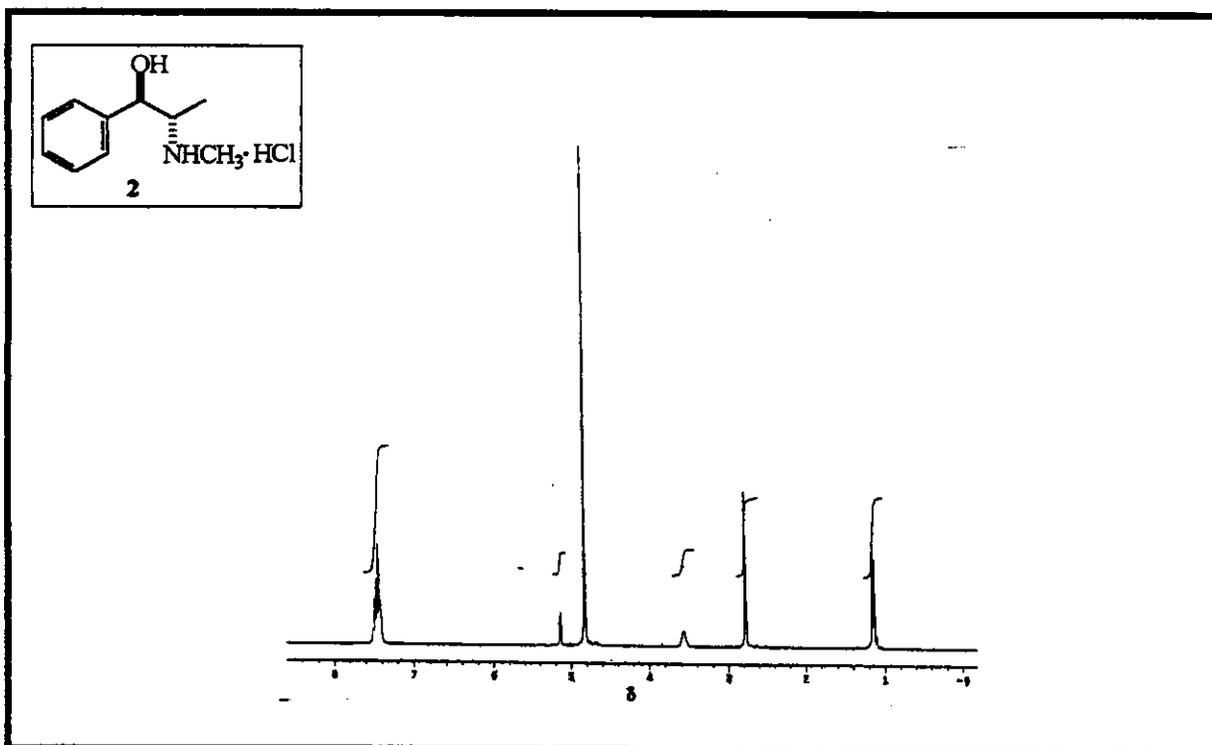
**Espectro 17:** RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 4-fenil-5-metil-1,3,2-dioxatiolano-2-óxido (11)



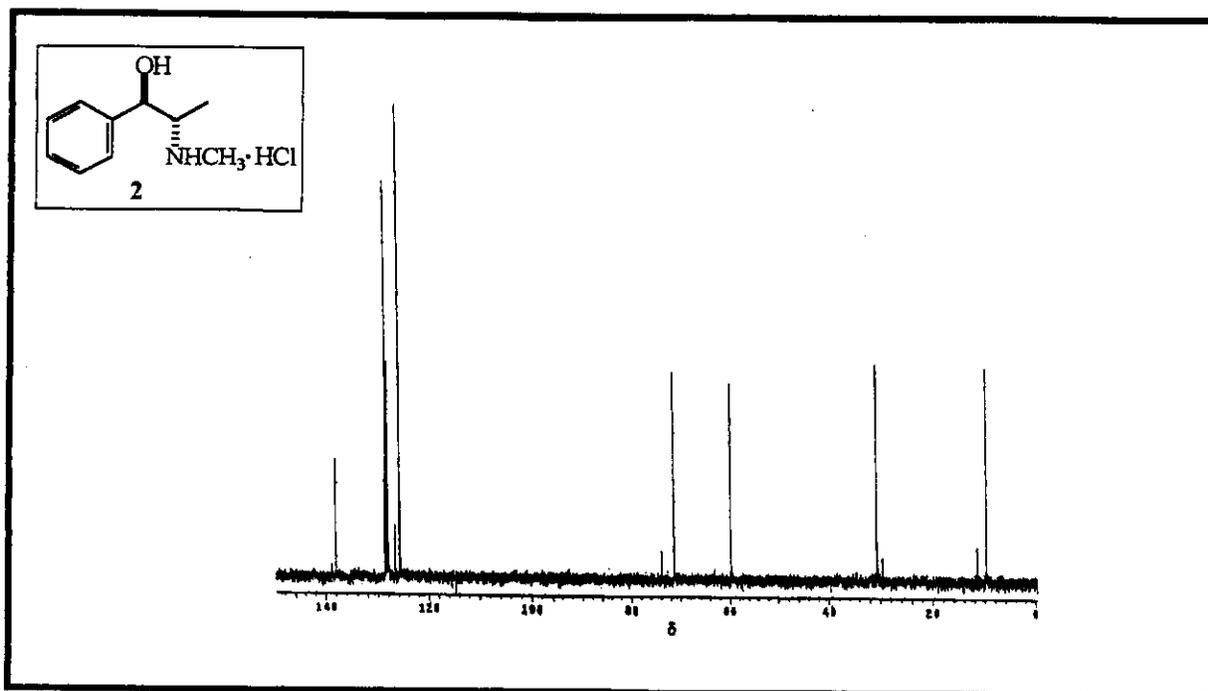
**Espectro 18:** RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 90 e 135 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 4-fenil-5-metil-1,3,2-dioxatiolano-2-óxido (11)



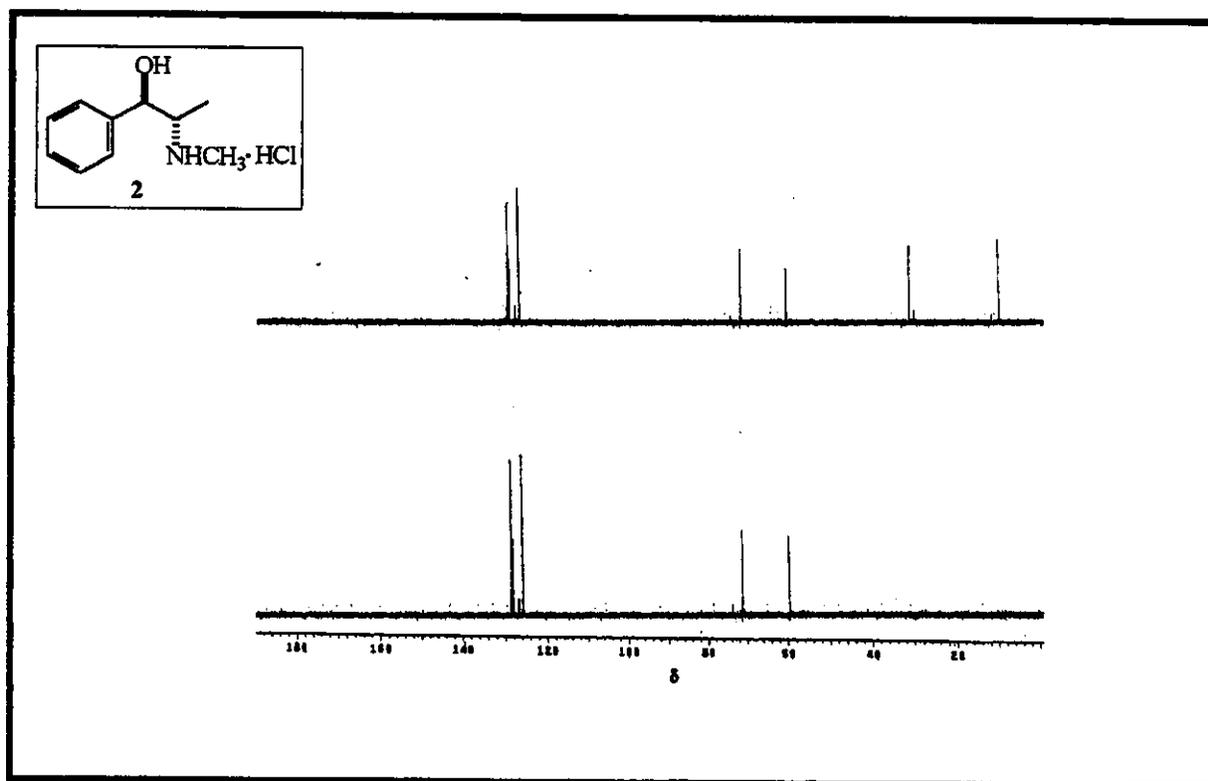
Espectro 19: IV (KBr) do cloridrato de efedrina (2)



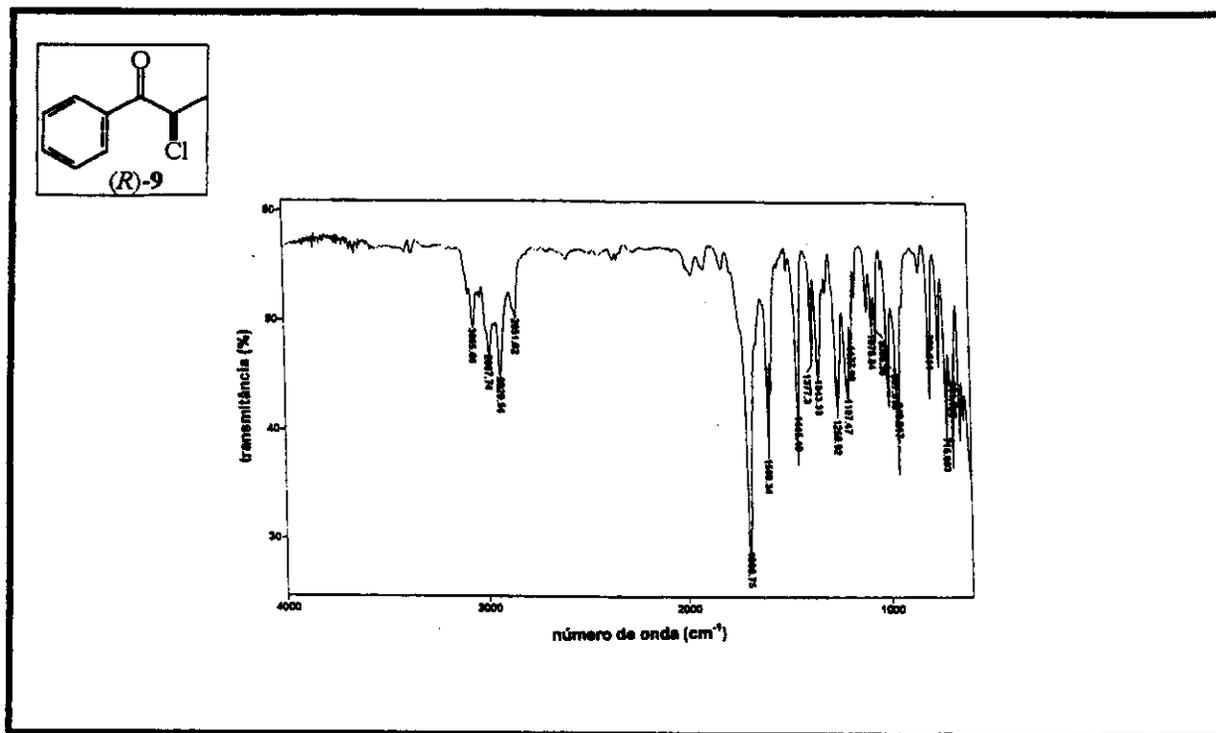
Espectro 20: RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O) do cloridrato de efedrina (2)



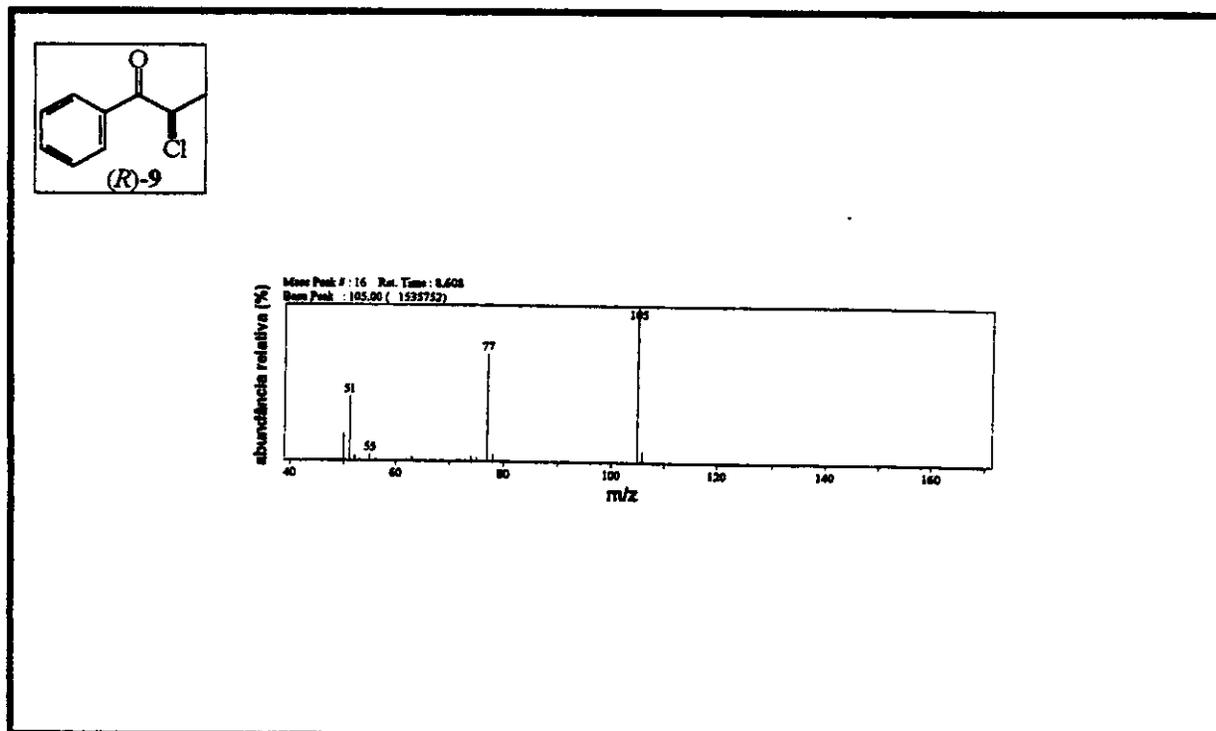
Espectro 21: RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, D<sub>2</sub>O) do cloridrato de efedrina (2)



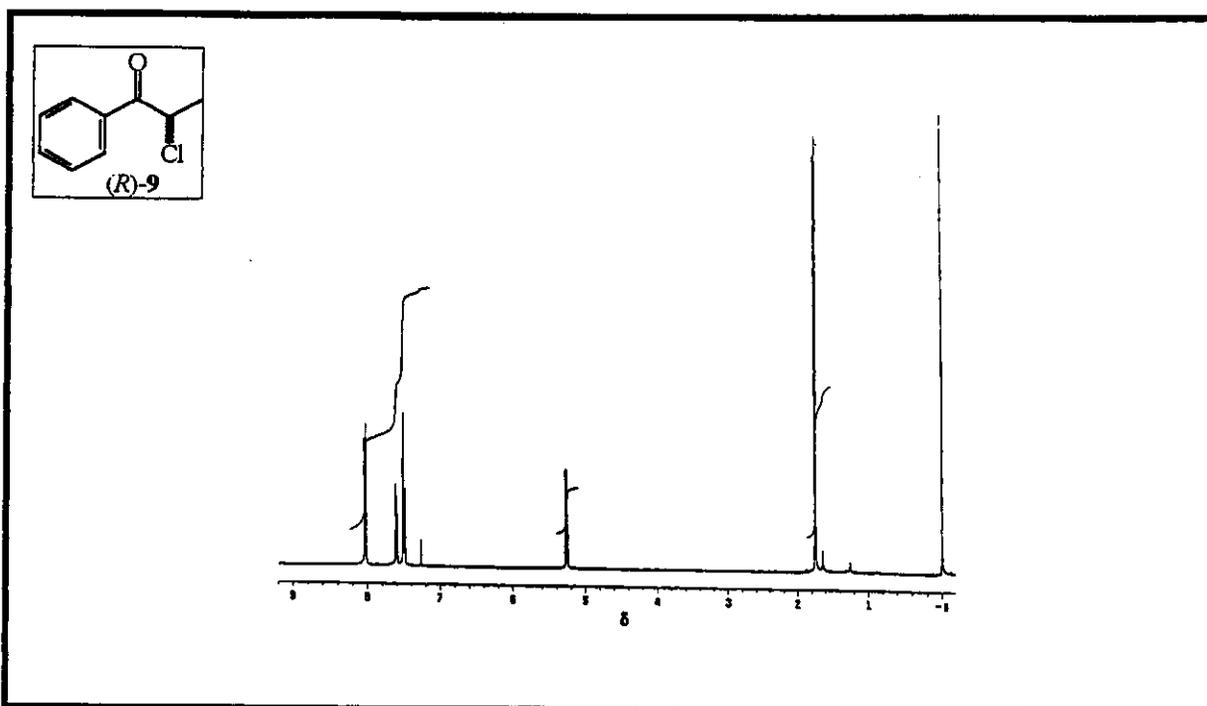
Espectro 22: RMN de <sup>13</sup>C DEPT 90 e 135 (75 MHz, D<sub>2</sub>O) do cloridrato de efedrina (2)



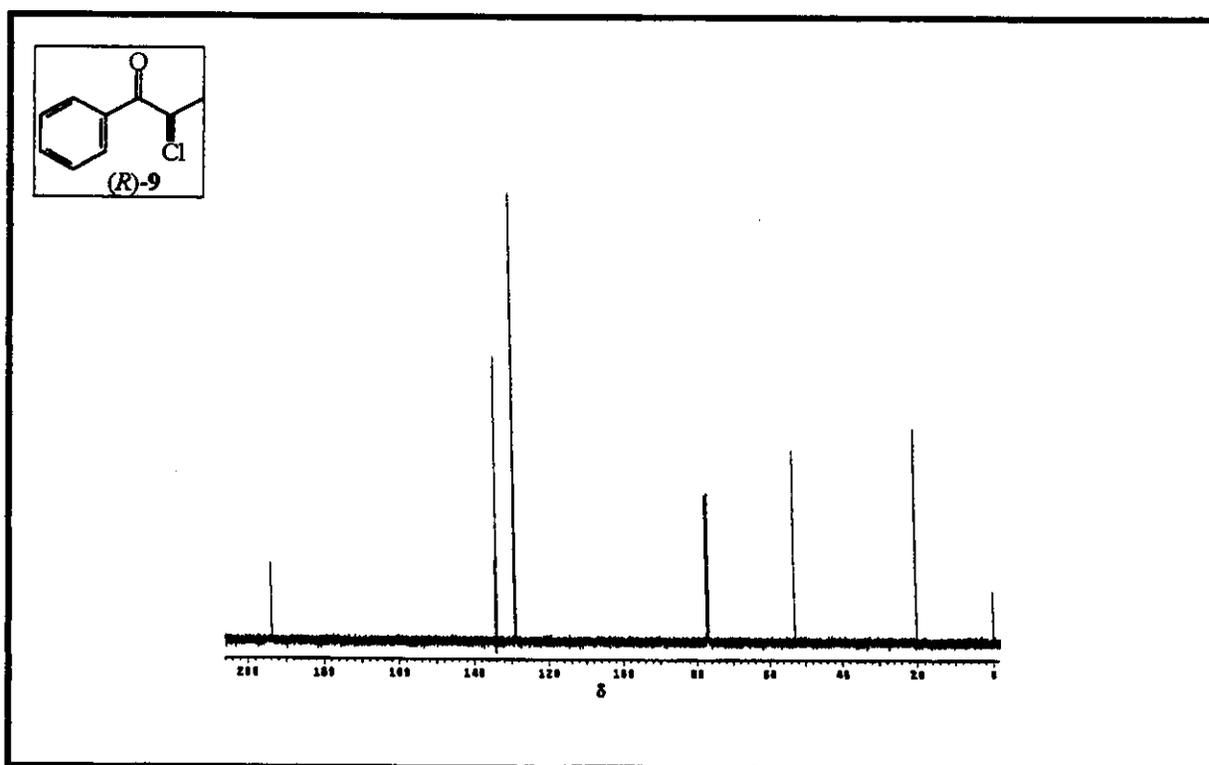
Espectro 23: IV (filme) da (R)-2-cloro-1-fenil-1-propanona (9)



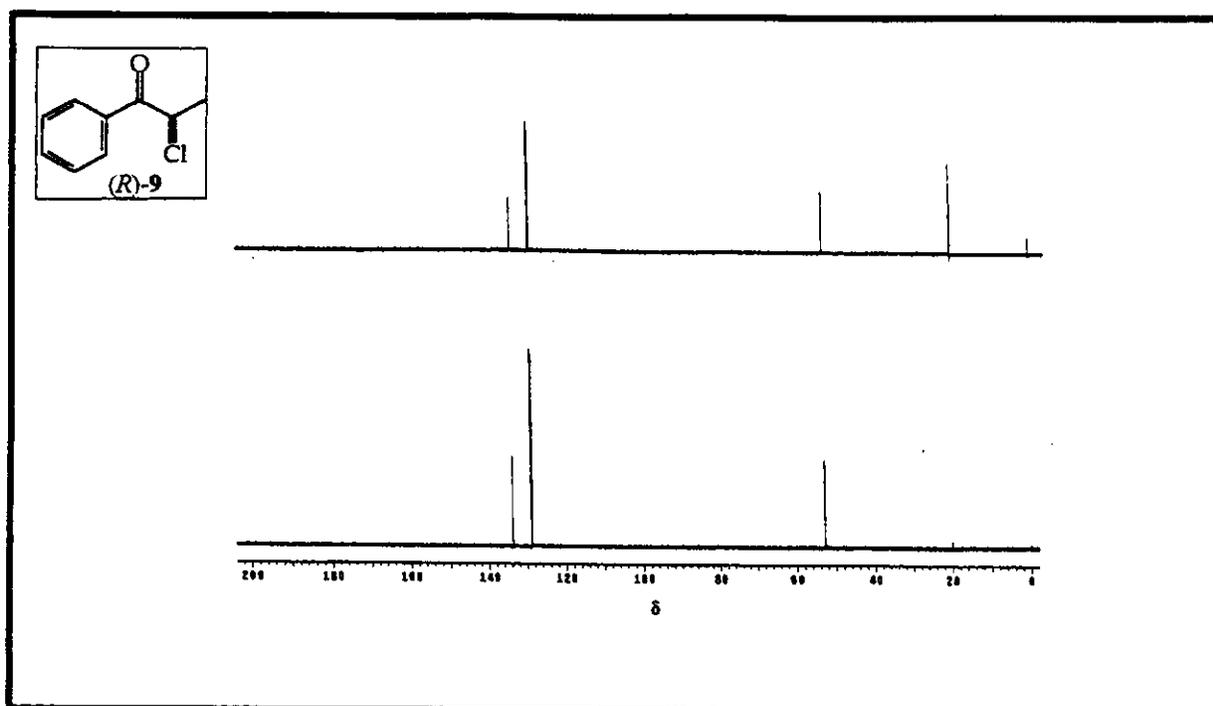
Espectro 24: EM da (R)-2-cloro-1-fenil-1-propanona (9)



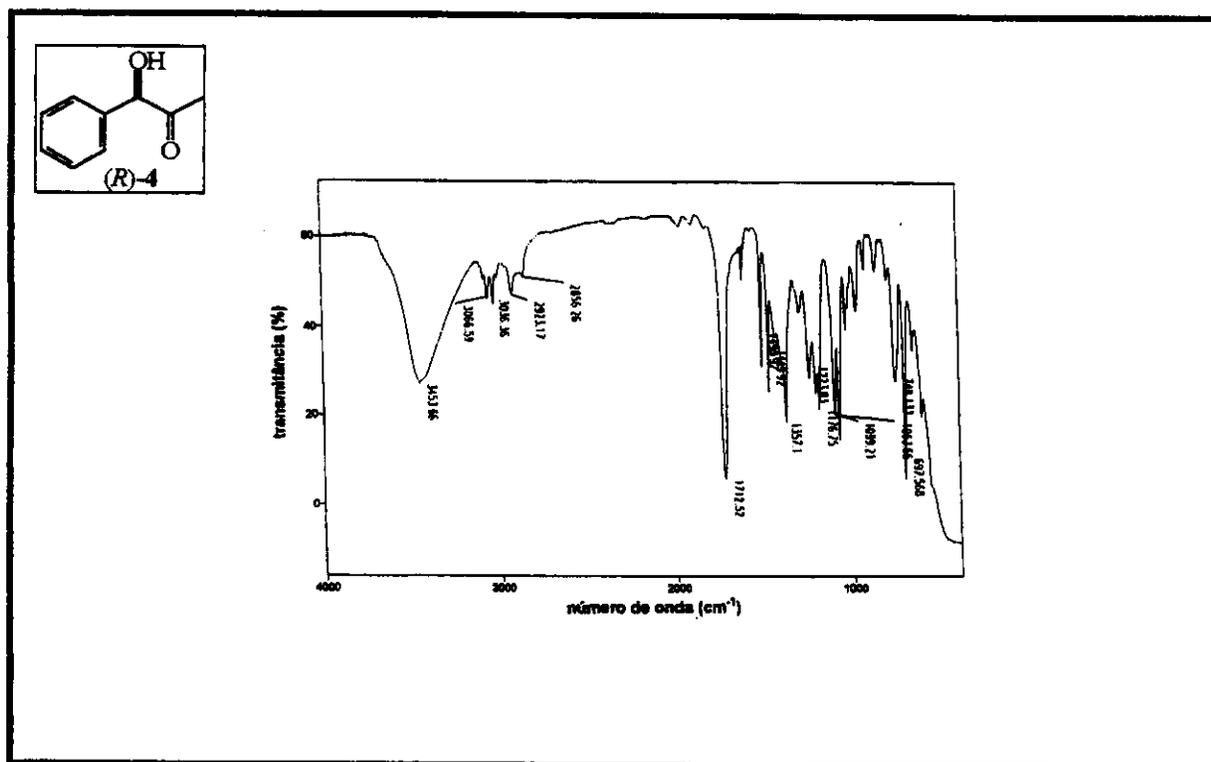
Espectro 25: RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) da (R)-2-cloro-1-fenil-1-propanona (9)



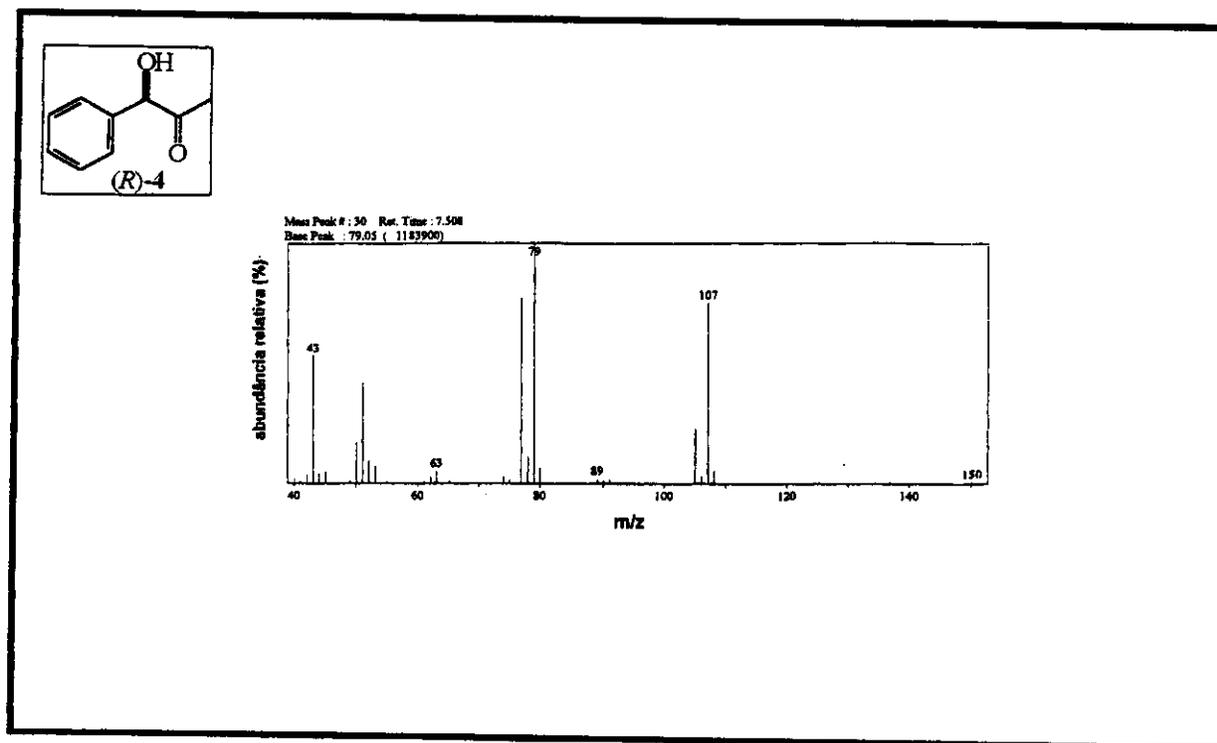
Espectro 26: RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) da (R)-2-cloro-1-fenil-1-propanona (9)



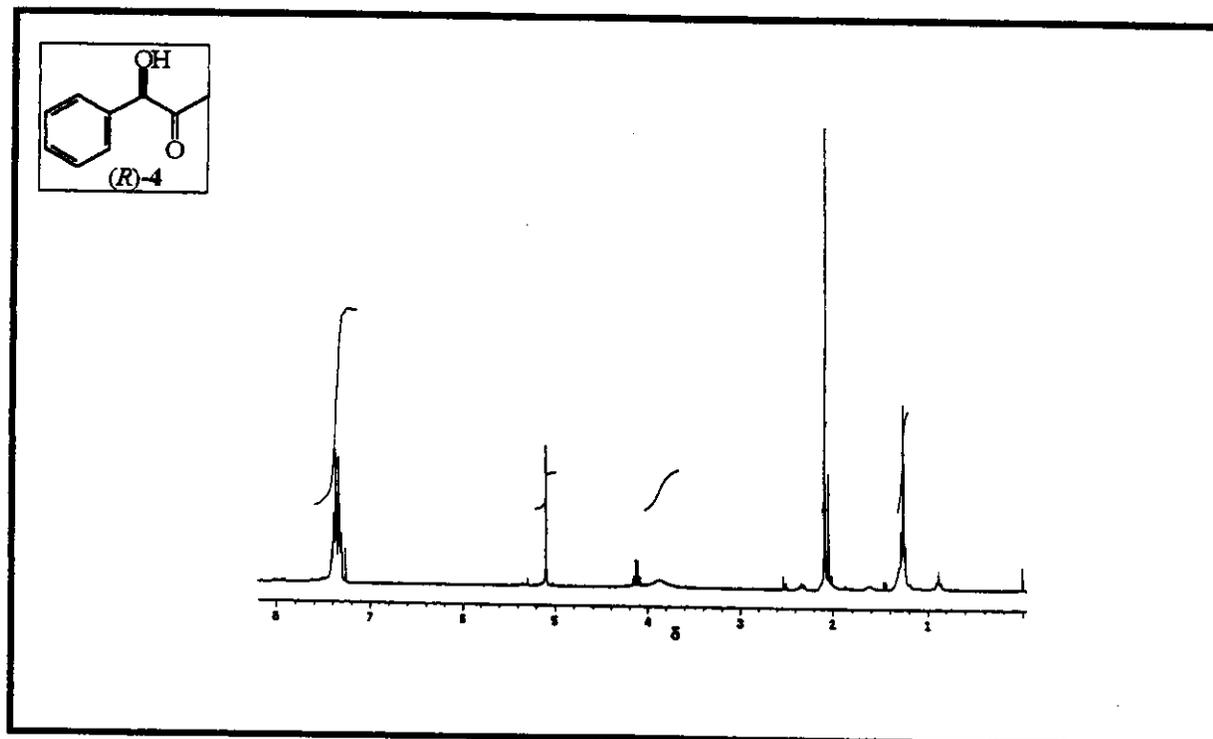
**Espectro 27:** RMN de <sup>13</sup>C DEPT 90 e 135 (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) da (R)-2-cloro-1-fenil-1-propanona (9)



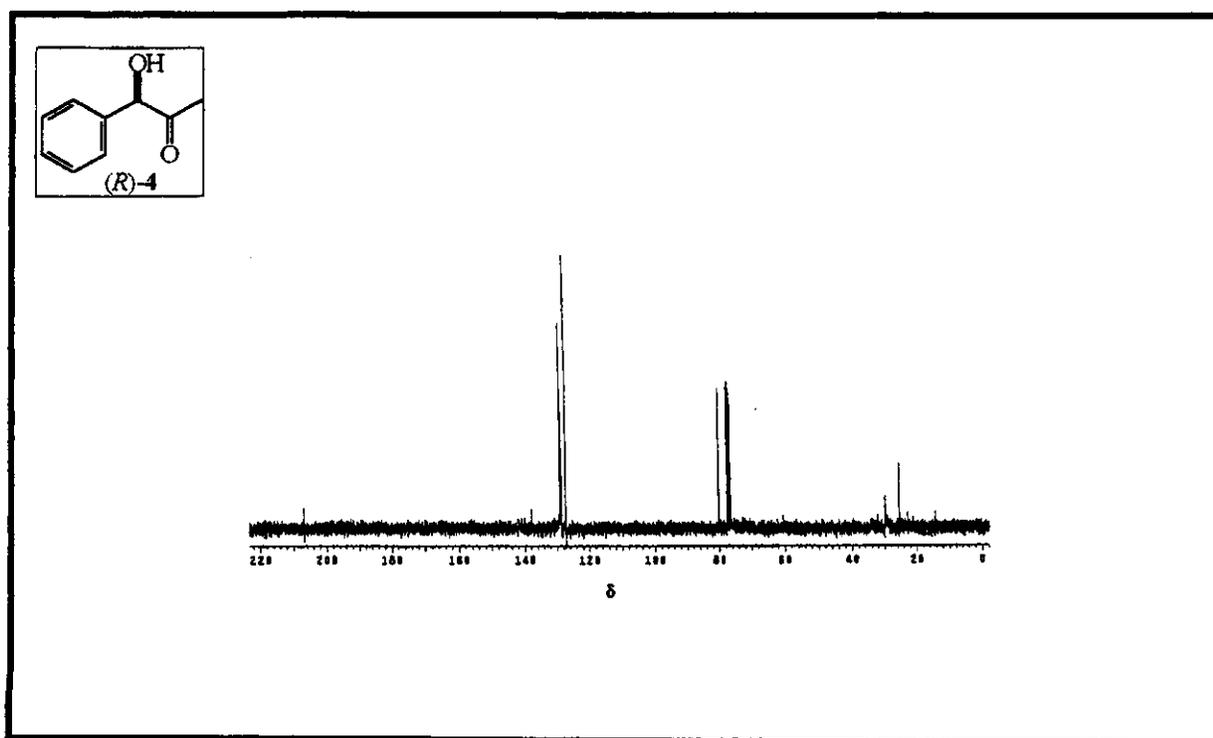
**Espectro 28:** IV (filme) da (R)-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (4)



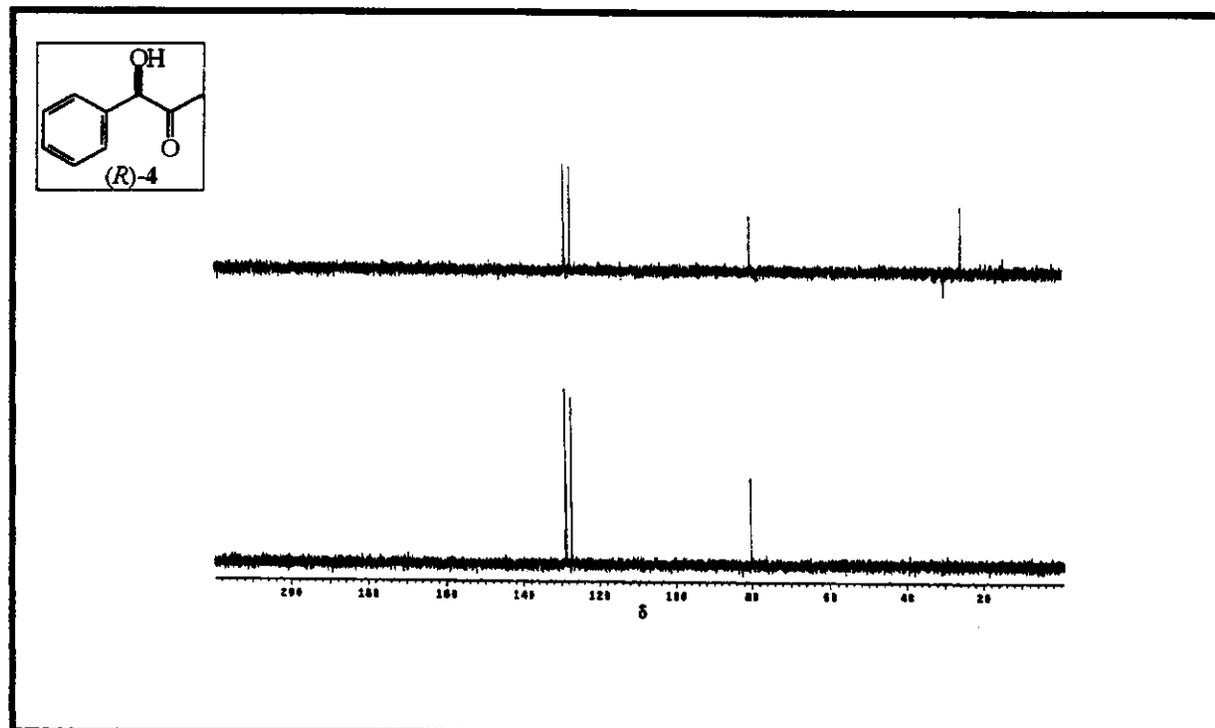
**Espectro 29: EM da (*R*)-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (4)**



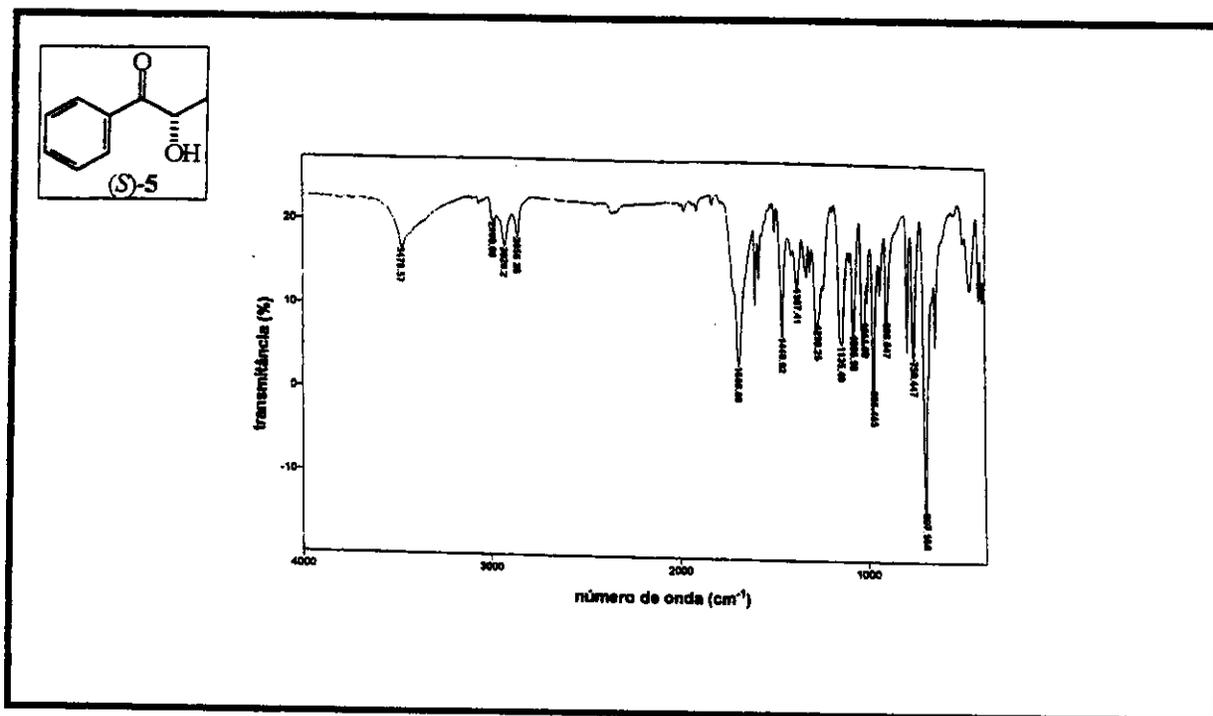
**Espectro 30: RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) da (*R*)-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (4)**



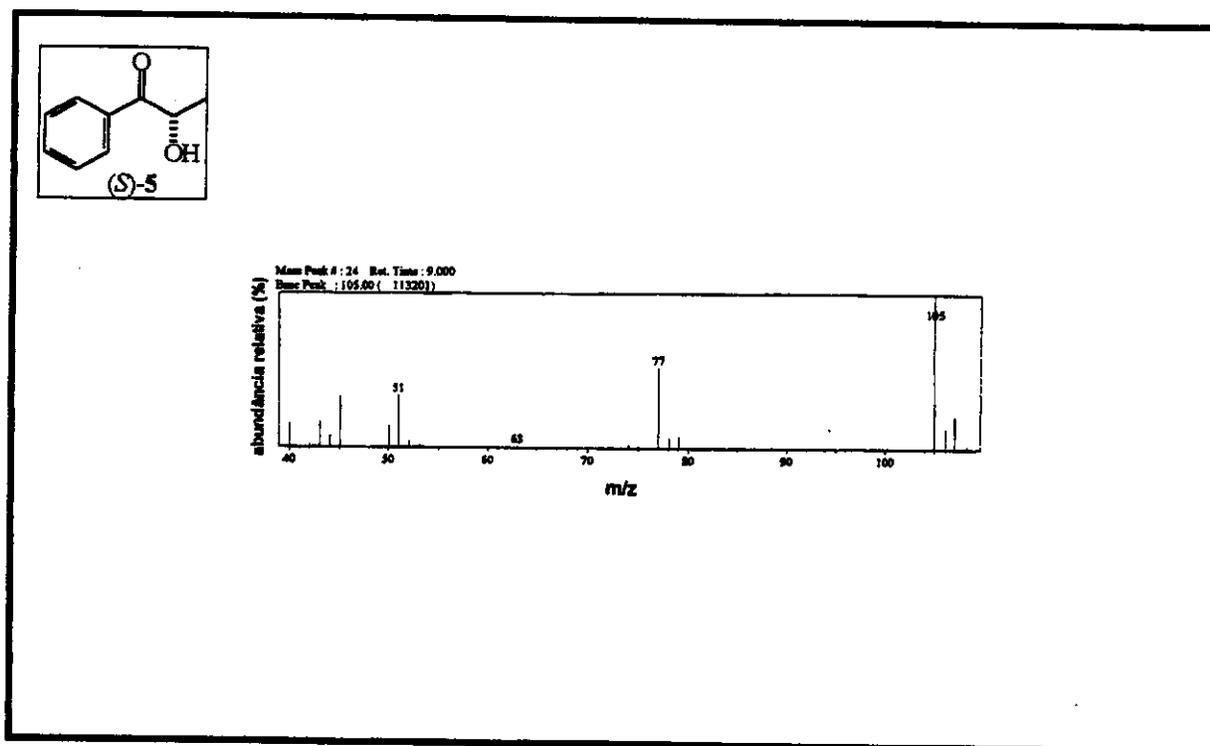
Espectro 31: RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) da (R)-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (4)



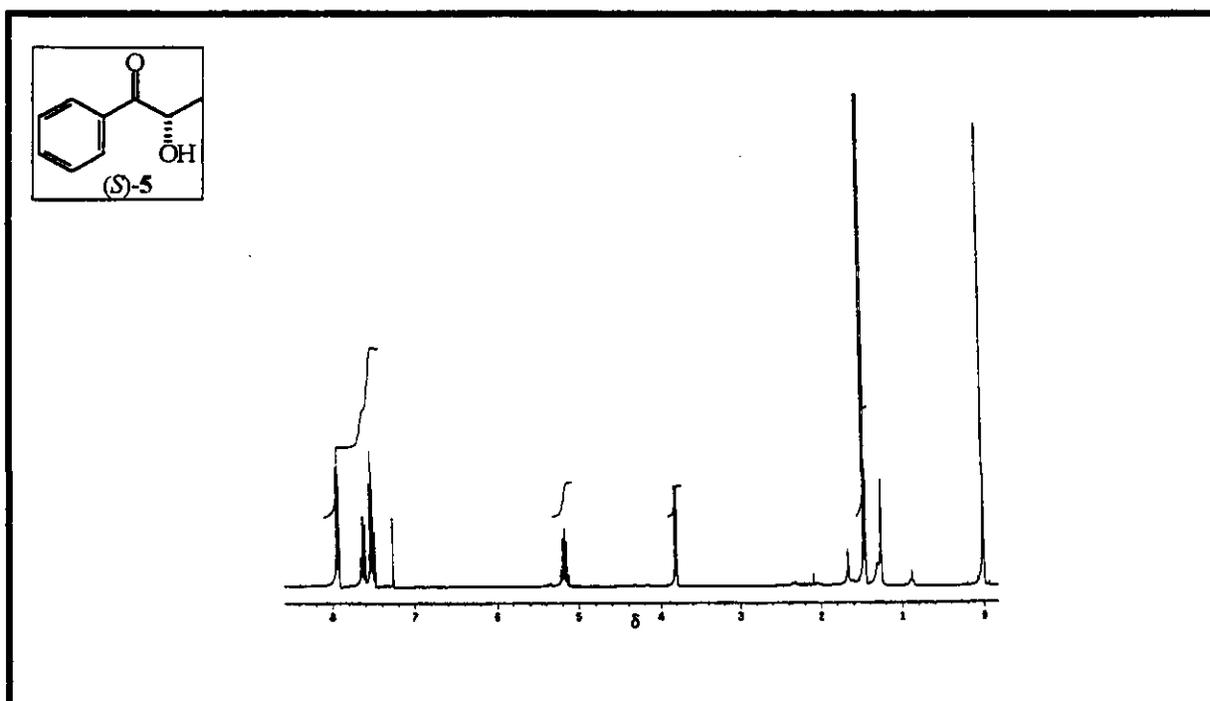
Espectro 32: RMN de <sup>13</sup>C DEPT 90 e 135 (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) da (R)-(-)-1-fenil-1-hidroxi-2-propanona (4)



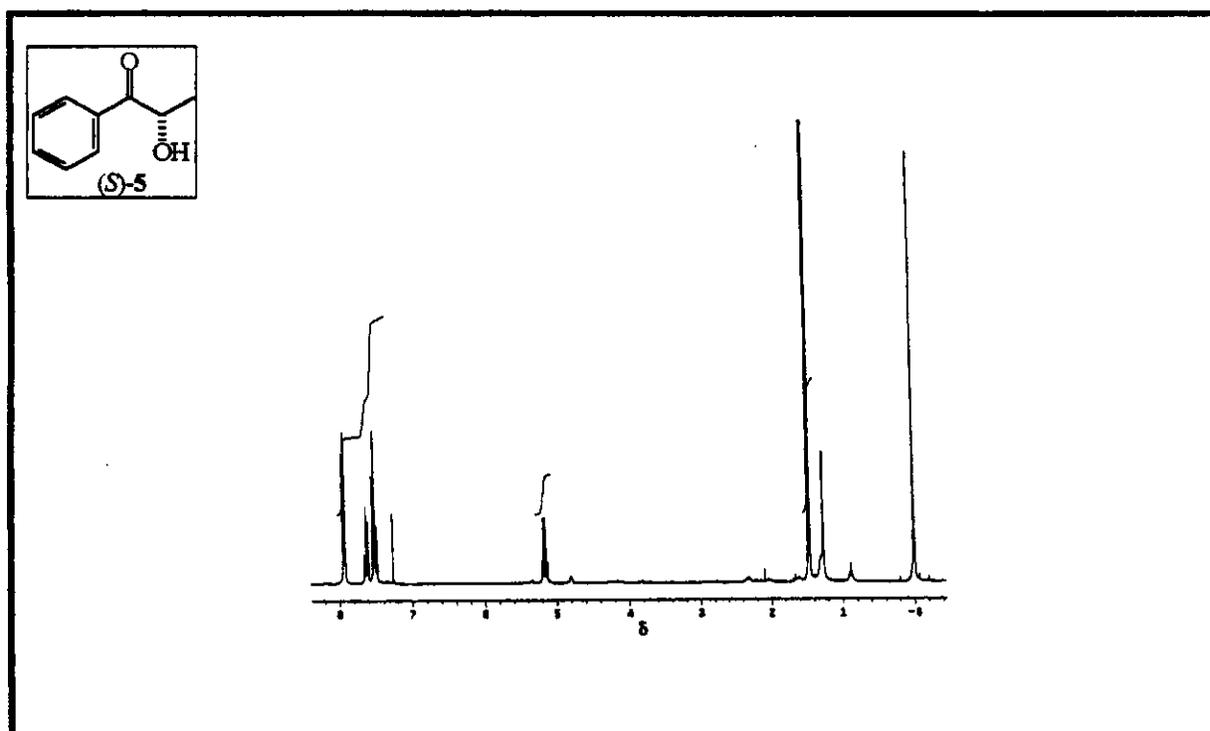
Espectro 33: IV (filme) da (S)-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (5)



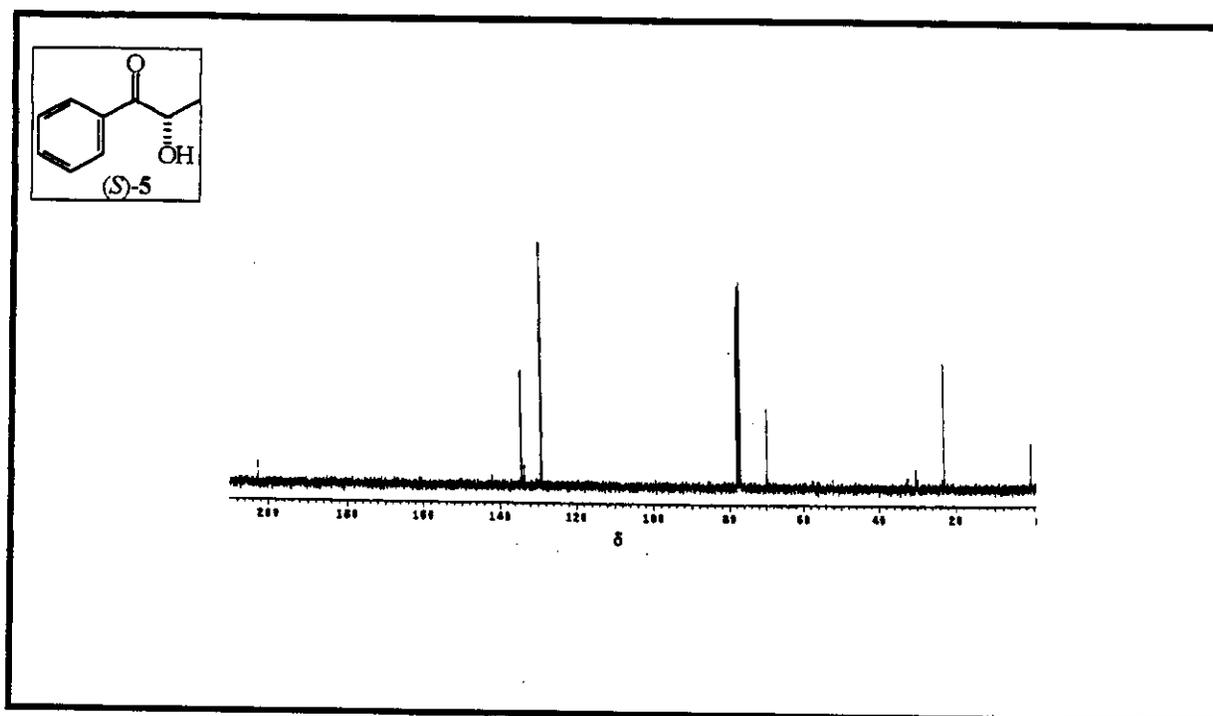
Espectro 34: EM da (S)-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (5)



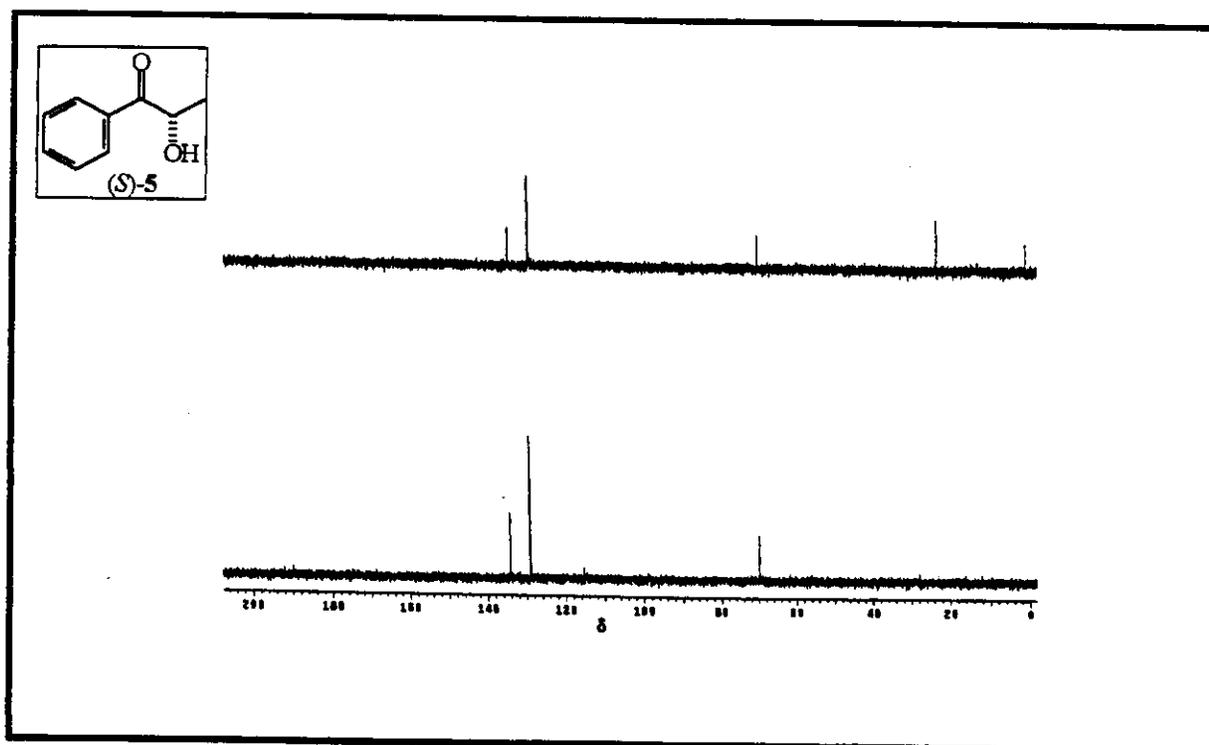
**Espectro 35:** RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) da (S)-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (5)



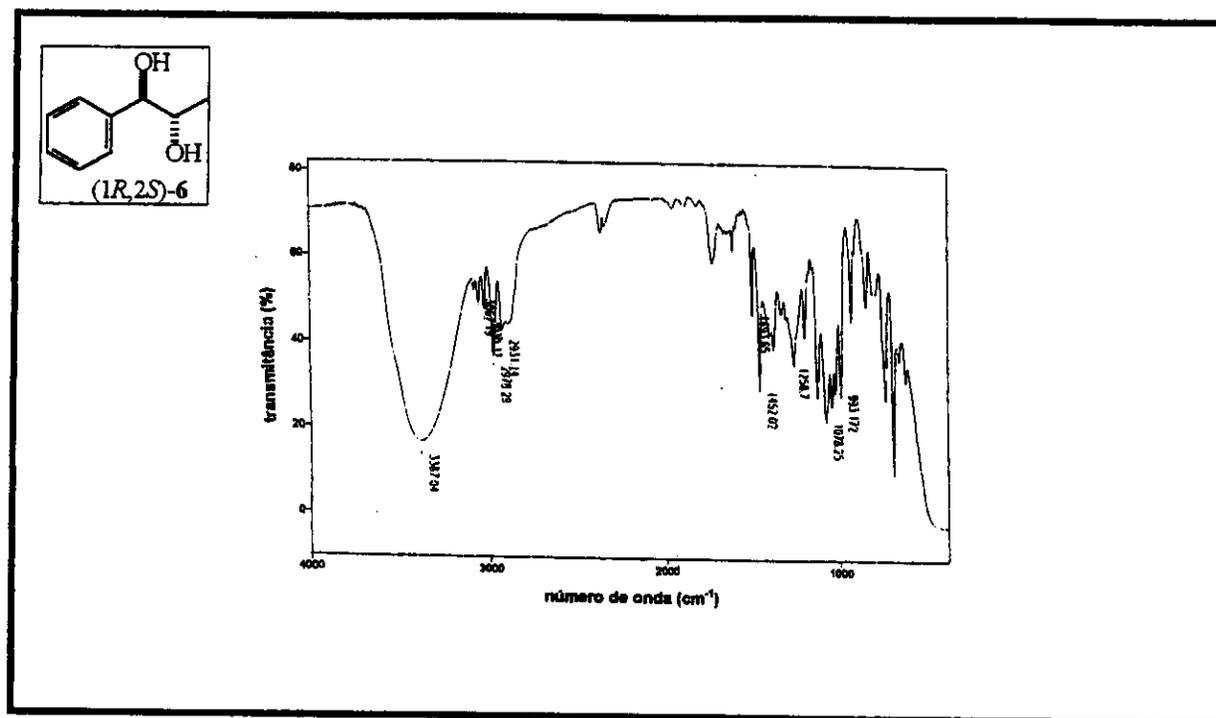
**Espectro 36:** RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O/CDCl<sub>3</sub>) da (S)-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (5)



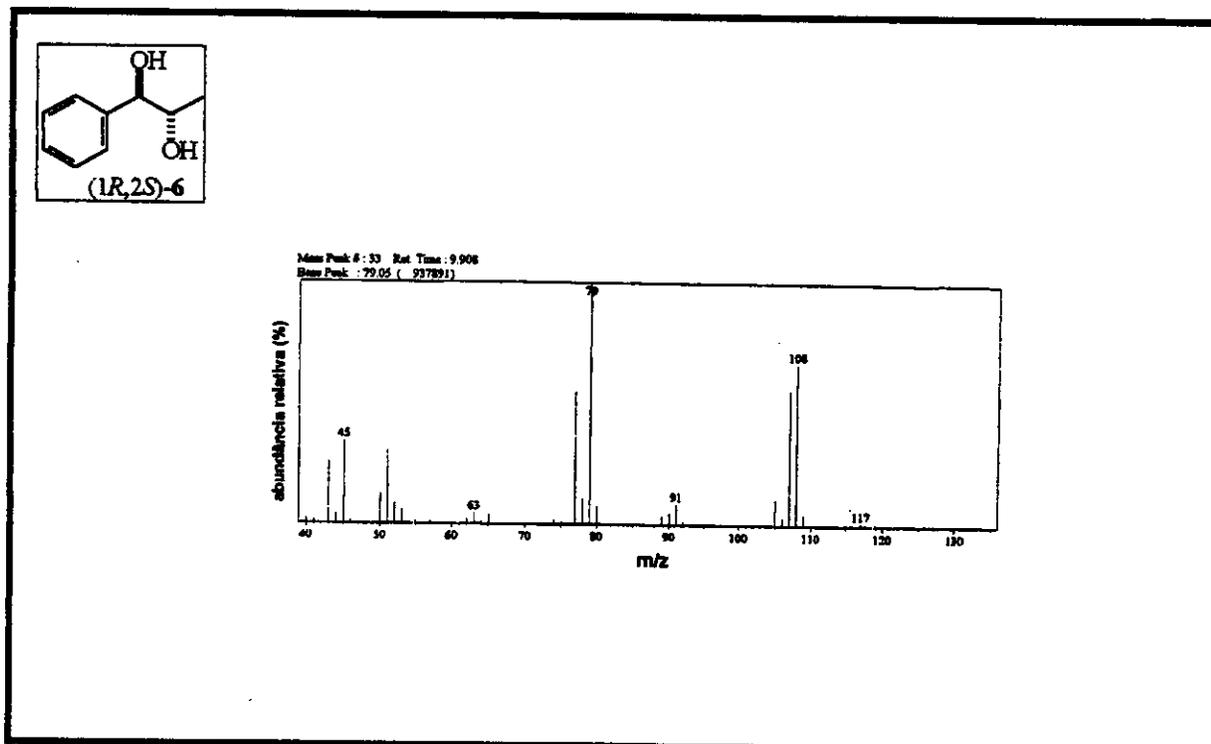
Espectro 37: RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (S)-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (5)



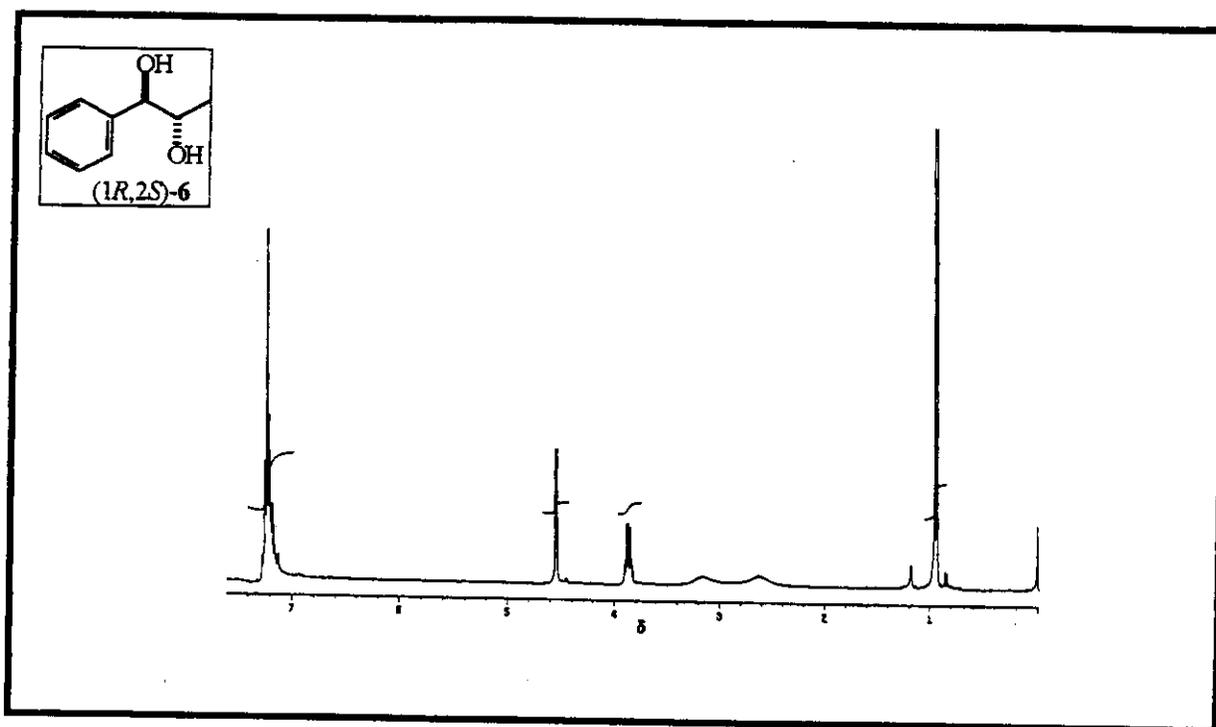
Espectro 38: RMN de <sup>13</sup>C DEPT 90 e 135 (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) da (S)-(-)-1-fenil-2-hidroxi-1-propanona (5)



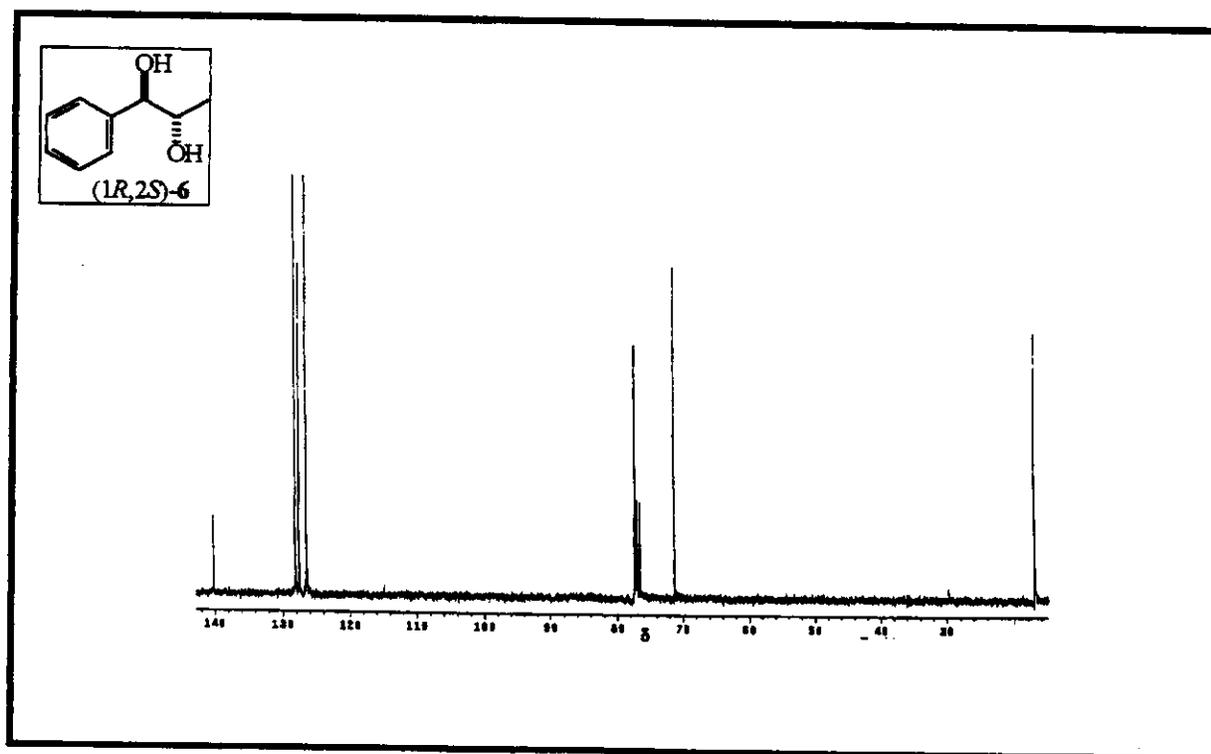
Espectro 39: IV (filme) do (1R,2S)-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (6)



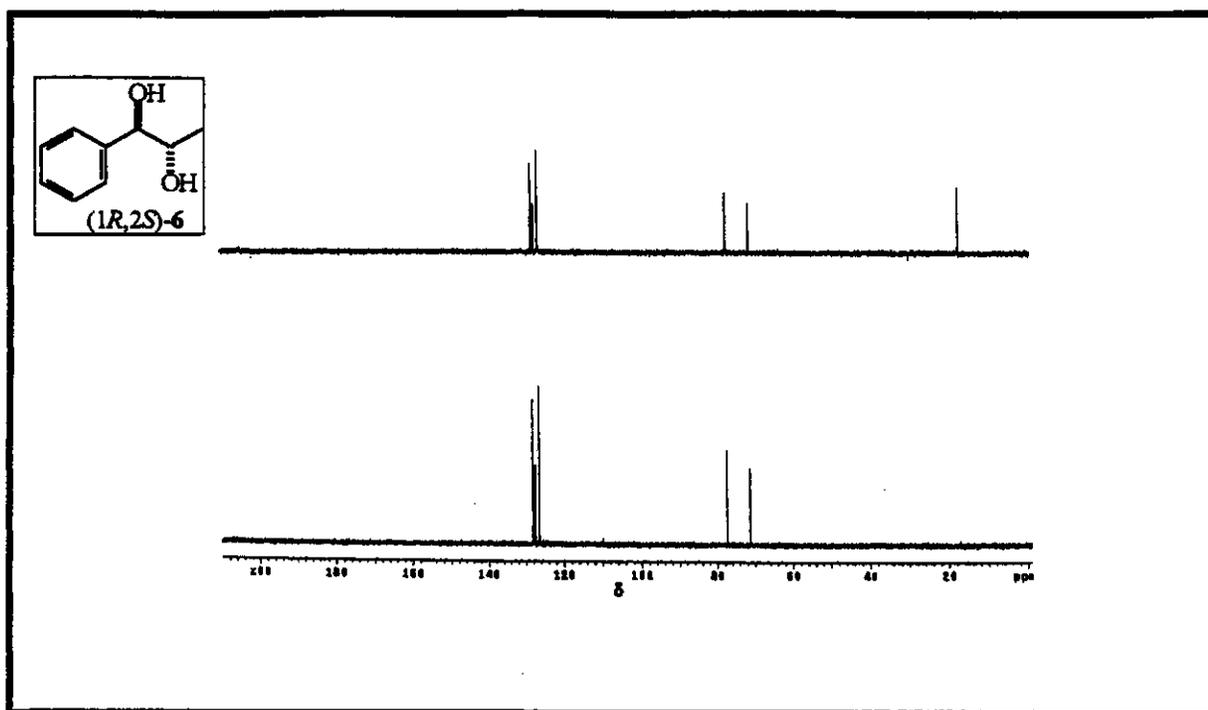
Espectro 40: EM do (1R,2S)-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (6)



Espectro 41: RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (1R,2S)-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (6)



Espectro 42: RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do (1R,2S)-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (6)



Espectro 43: RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 90 e 135 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do (1*R*,2*S*)-(-)-1-fenil-1,2-propanodiol (6)