

Universidade Estadual de Campinas

Instituto de Química



Síntese Assimétrica de Intermediários Quirais de β -Hidroxi- α -Amino Ácidos e α -Amino Álcoois via Redução Microbiológica utilizando *Saccharomyces cerevisiae*

Dissertação de Mestrado

Ivan Reis Corrêa Junior

Orientador: Prof. Dr. Paulo J. S. Moran

Campinas, 1998

UNIDADE	IQ
N.º CHAMADA	UN-AM
	C817s
V	Ex.
TOMBO BC	37639
PROC.	229/99
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	05/05/99
N.º CPD	0400/22924-4

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

C817s Corrêa Junior, Ivan Reis
 Síntese assimétrica de intermediários quirais de β -hidroxi- α -amino ácidos e α -amino álcoois via redução microbiológica utilizando *Saccharomyces cerevisiae* / Ivan Reis Corrêa Junior -- Campinas, SP: [s.n.], 1998.

Orientador: Paulo J. S. Moran
 Dissertação (mestrado) -- Universidade Estadual de Campinas.
 Instituto de Química.

1. Redução Microbiológica. 2. Oximas. 3. *Saccharomyces cerevisiae*. I. Moran P. J. S. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Aos meus pais,

Ivan e Lurdinha

e avós,

Dedé e Adelaide

*"Quem me ensinou a nadar, quem me ensinou a nadar
Foi, foi marinheiro, foi os peixinhos do mar
Ê nós que viemos de outras terras, de outro mar
Temos pólvora, chumbo e bala, nós queremos é guerrear."*

(Peixinhos do mar - cantiga de marujada;
adaptação Tavinho Moura)

Índice

Agradecimentos	xiii
Resumo	xv
Abstract	xvii
Abreviações	xix
Publicações	xxi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Biocatálise	1
1.1.1. Histórico	1
1.1.2. Transformação Microbiológica vs Fermentação	2
1.1.3. Vantagens e Desvantagens da Biocatálise	3
1.1.4. Catálise Enzimática vs Catálise Microbiológica	4
1.1.5. Imobilização de Biocatalisadores	5
1.2. Importância da Biocatálise em Síntese Assimétrica	6
1.3. Síntese Assimétrica Enzimática	7
1.3.1. Classificação das Enzimas	7
1.3.2. Álcool Desidrogenases (ADH)	7
1.3.3. Reduções Assimétricas Enzimáticas	9
1.4. Síntese Assimétrica Microbiológica	11
1.4.1. Considerações Gerais	11
1.4.2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12
1.4.3. Reduções Assimétricas Microbiológicas	13
1.4.4. Regra de Prelog	16
1.5. Síntese Assimétrica de β-hidroxi-α-amino ácidos e α-amino álcoois	17

2. OBJETIVOS	19
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	21
3.1. Preparação dos compostos α-nitrogenados derivados de β-ceto ésteres	21
3.1.1. Síntese do α -azido- β -ceto éster	21
3.1.2. Síntese do α -diazó- β -ceto éster	22
3.1.3. Síntese dos α -oximas- β -ceto ésteres	22
3.1.4. Síntese dos α -O-alkil oximas- β -ceto ésteres	23
3.1.5. Síntese do α -O-acil oxima- β -ceto éster	24
3.2. Estereoquímica E/Z das oximas e derivados	25
3.2.1. Espectroscopia de RMN	25
3.2.2. Espectroscopia de Infravermelho	27
3.2.3. Efeito Estereoeletrônico	29
3.3. Reduções Microbiológicas	31
3.3.1. Testes Preliminares sobre a Biorredução dos compostos α -nitrogenados derivados de β -ceto ésteres	31
3.3.2. Otimização da Biorredução de α -O-alkil oximas	32
3.3.3. Redução Microbiológica de α -O-alkil oximas	35
3.4. Preparação das β-hidroxi-α-O-alkil oximas Racêmicas	40
3.4.1. Síntese ($\pm$)- α -O-alkil-oximas- β -hidroxi ésteres	40
3.4.2. Estereoquímica E/Z dos α -O-alkil-oximas- β -hidroxi ésteres e O-alkil-oximas 1,3-dióis.	43
3.5. Determinação da Pureza Enantiomérica das β-hidroxi-α-O-alkil oximas	45
3.6. Preparação dos β-hidroxi- α-amino ácidos e α-amino álcoois	47
4. CONCLUSÕES	49

5. PARTE EXPERIMENTAL	51
5.1. Considerações Gerais	51
5.1.1. Instrumentos Utilizados	51
5.1.2. Reagentes	51
5.2. Preparação dos compostos α-nitrogenados derivados de β-ceto ésteres	52
5.2.1. Síntese do α -azido- β -ceto éster	52
5.2.2. Síntese do α -diazó- β -ceto éster	54
5.2.3. Síntese dos α -oximas- β -ceto ésteres	55
5.2.4. Síntese dos α -(<i>O</i> -alquil-oximas)- β -ceto ésteres	57
5.2.5. Síntese dos α -(<i>O</i> -acil-oximas)- β -ceto ésteres	58
5.3. Reduções Microbiológicas	59
5.3.1. Testes Preliminares sobre a Biorredução dos compostos α -nitrogenados derivados de β -ceto ésteres	59
5.3.2. Otimização da Biorredução de α - <i>O</i> -alquil-oximas	61
5.3.3. Redução de Microbiológica de α - <i>O</i> -alquil-oximas	64
5.4. Preparação das β-hidroxi-α-<i>O</i>-alquil oximas Racêmicas	67
5.4.1. Testes Preliminares sobre a Síntese dos α -(<i>O</i> -alquil-oximas)- β -hidroxi ésteres racêmicos	67
5.4.2. Síntese Racêmica (<i>Z</i>)- α -(<i>O</i> -alquil-oximas)- β -hidroxi ésteres	68
5.4.3. Síntese Racêmica (<i>E</i>)- α -(<i>O</i> -alquil-oximas)- β -hidroxi ésteres	70
5.4.4. Síntese Racêmica dos (<i>E</i>)- e (<i>Z</i>)-2-(<i>O</i> -alquil-oximas)-1,3-dióis	71
5.5. Determinação da Pureza Enantiomérica das β-hidroxi-α-<i>O</i>-alquil oximas	73
5.6. Preparação dos β-hidroxi- α-amino ácidos e α-amino álcoois	74
5.6.1. Síntese dos β -hidroxi- α -amino ácidos	74
5.6.2. Síntese dos β -hidroxi- α -amino álcoois	76
APÊNDICE 1: Dados Espectroscópicos e Espectrométricos dos Compostos	77
APÊNDICE 2: Espectros	97

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Paulo José Samenho Moran, pela orientação, incentivo e amizade;

À Nara, pela compreensão, apoio e carinho;

Aos colegas de laboratório, pela convivência e colaboração, em especial ao Amauri, pela ajuda e companheirismo;

Aos amigos Antenor e Rosseto, e aos saudosos Marc e Cristóvão, pelos momentos e *manguaças* inesquecíveis;

Ao Prof. Dr. José Augusto R. Rodrigues, pelos materiais e reagentes cedidos;

Aos técnicos e funcionários do Instituto de Química da Unicamp;

À FAPESP, pelo auxílio financeiro.

“Síntese Assimétrica de Intermediários Quirais de β -Hidroxi- α -Amino Ácidos e α -Amino Álcoois via Redução Microbiológica utilizando *Saccharomyces cerevisiae*.”

Autor: Ivan Reis Corrêa Junior

Orientador: Prof. Dr. Paulo J. S. Moran

Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas

C.P. 6154 – 13081-970 Campinas, SP – BRASIL

Palavras-chave: redução microbiológica; *Saccharomyces cerevisiae*; oximas.

Resumo

Neste trabalho foi investigada a possibilidade de aplicação da redução microbiológica enantiosseletiva de compostos carbonílicos α -nitrogenados, $R_1COC(X)COOR_2$ (X : $-N_3$, $=N_2$, $=NOH$, $=NOR_3$; R_1 , R_2 , R_3 : alquil, aril), mediada por *Saccharomyces cerevisiae*, para a obtenção de intermediários quirais na síntese de β -hidroxi- α -amino ácidos e α -amino álcoois opticamente ativos *não naturais*.

Os α -(*O*-alquil-oxima)- β -cetoésteres apresentaram os melhores resultados nas biorreduções empregando *S. cerevisiae* imobilizado em montmorilonita K10, e foram sintetizados através da nitrosação dos respectivos β -cetoésteres e da subsequente *O*-alquilação, com rendimento global de 44-87%, sendo obtidos preferencialmente na configuração diastereoisomérica *Z*, segundo espectroscopia de IV e RMN- ^{13}C .

A redução microbiológica das (*E*)- e (*Z*)- α -(*O*-alquil-oxima)- β -ceto ésteres foi otimizada com relação às condições reacionais na presença de aditivos, açúcar, pH, temperatura e concentração relativa de substrato, obtendo-se os respectivos álcoois enantiomericamente enriquecidos com rendimentos moderados 10-37% e com excessos enantioméricos apreciáveis 69-98%, e na maioria dos casos recuperando-se o material de partida em 16-42%.

A estereodiferenciação das α -(*O*-alquil-oxima)- β -cetoésteres pelo microorganismo independe da configuração diastereoisomérica *E/Z*, sendo influenciada tanto nos rendimentos quanto nos excessos enantioméricos pelo tamanho dos grupos na cadeia lateral.

Por outro lado, o comportamento destes isômeros mostrou-se bastante distinto frente a boroidreto de sódio, sendo possível a redução diastereosseletiva de *Z* para a α -*Z*-(*O*-alquil-oxima)- β -hidroxi ésteres (rends. 72-85%) e a de *E* para α -*E*-(*O*-alquil-oxima)- β -hidroxi ésteres (rends. 71-85%) ou para 2-(*O*-alquil-oxima)-1,3-dióis (rends. 71-83%) controlando-se apenas a temperatura da reação.

“Asymmetric Synthesis of Chiral Intermediaries of β -Hydroxy- α -Amino Acids and α -Amino Alcohols via Microbial Reduction using *Saccharomyces cerevisiae*.”

Author: Ivan Reis Corrêa Junior

Supervisor: Prof. Dr. Paulo J. S. Moran

Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas

C.P. 6154 – 13081-970 Campinas, SP - BRAZIL

Keywords: microbial reduction; *Saccharomyces cerevisiae*; oximes.

Abstract

In this work, it was investigated the possibility of application of enantioselective microbial reduction of α -nitrogenated carbonylic compounds, $R_1COC(X)COOR_2$ (X: $-N_3$, $=N_2$, $=NOH$, $=NOR_3$; R_1 , R_2 , R_3 : alkyl, aryl), mediated by *Saccharomyces cerevisiae*, to obtain chiral intermediates for the synthetic approach of optically active β -hydroxy- α -amino acids and α -amino alcohols.

The α -(*O*-alkyloxime)- β -ketoesters gave the best results in bioreductions using *S. cerevisiae* immobilized on montmorillonite K10. The α -(*O*-alkyloximes)- β -ketoesters were prepared by nitrosation of corresponding β -ketoesters and subsequent *O*-alkylation with 44-87% overall yields, resulting in the predominant *Z* diastereoisomeric configuration, which was systematically determinate by NMR- ^{13}C and IR spectroscopy.

The microbial reduction of (*E*)- and (*Z*)- α -(*O*-alkyloxime)- β -ketoesters was optimized concerning the presence of additives, sugar, pH, temperature and relative concentration of substrate. The enantiomerically enriched alcohols were obtained with reasonable isolated yields 10-37% and nicely good enantiomeric excess 69-98% and also the starting material was recovered in 16-42%.

The stereodifferentiation of α -(*O*-alkyloxime)- β -ketoesters by microorganism was independent of diastereoisomeric configuration *E/Z*. The chemical yield and the enantiomeric excess were remarkable influenced by the size of groups at the side chain.

By the other hand, these isomers exhibited a very different behaviour in reduction with sodium borohydride: the *Z* isomers gave α -*Z*-(*O*-alkyloxime)- β -hydroxyesters (yields 72-85%), while the *E* isomers gave α -*E*-(*O*-alkyloxime)- β -hydroxyesters (yields 71-85%) or 2-(*O*-alkyloxime)-1,3-diols (yields 71-83%) dependent of reaction temperature.

Abreviações

Ac₂O - anidrido acético

ADH - álcool desidrogenase

AE - análise elementar

calc. - calculado

CCD - cromatografia em camada delgada

CLME - cromatografia líquida de média eficiência

CG - cromatografia gasosa

col. - colaboradores

Conc. - concentração

Comp. - compostos

DMSO - dimetil sulfoxido

e.e. - excesso enantiomérico

EM - espectrometria de massas

Et - etila

FDH - formiato desidrogenase

FPI - fermento de pão imobilizado

IE - impacto de elétrons

int. rel. - intensidade relativa

HLADH - horse liver (fígado de eqüinos) álcool desidrogenase

IV - infravermelho

NADH - nicotinamida adenina nucleotideo

NADPH - nicotinamida adenina nucleotideo fosfatado

Me - metila

MM - massa molecular

m/z - coeficiente entre massa e carga

PADH - *Pseudomonas sp.* álcool desidrogenase

Pd-C - paládio sobre carvão ativo

pf - ponto de fusão

Ph - fenila

Recup. - recuperado

Rend. - rendimento

RMN- ressonância magnética nuclear

ta - temperatura ambiente

TBADH - *Thermoanaerobium brockii* álcool desidrogenase

THF - tetraidrofurano

TMS - tetrametilsilano

YADH - yeast (levedura) álcool desidrogenase

δ - deslocamento químico

ν - frequência de estiramento

Publicações

Trabalhos originados a partir desta Dissertação de Mestrado publicados como Resumos em Anais de Congressos Nacionais:

- Corrêa Jr.; I. R.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R.

“Estudos sobre a Redução Microbiológica de O-alkiloximas com Fermento de Pão Imobilizado.”

Poços de Caldas, MG, BRASIL, 20ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Livro de Resumos, vol. 2, QO-119, (1997).

- Corrêa Jr.; I. R.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R.

“Redução Enantiosseletiva de (*E*)- e (*Z*)-3-Alquil-2-Metoxilimino-3-Oxo-Propionatos Mediada por Fermento de Pão Imobilizado.”

Poços de Caldas, MG, BRASIL, 21ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Livro de Resumos, vol. 2, QO-125, (1998).

Trabalho originado a partir desta Dissertação de Mestrado publicado como Resumo em Anais de Congresso Internacional:

- Corrêa Jr.; I. R.; Moran, P. J. S.

“Reduction of (*Z*)- and (*E*)-2-(*O*-Akyloximes)-3-oxo-Alkanoates by Sodium Borohydride.”

São Pedro, SP, BRAZIL, 8th Brazilian Meeting on Organic Synthesis (8th BMOS)

Abstracts, PS-159, 206 (1998).

1. Introdução

1.1. Biocatálise

1.1.1. Histórico¹

Desde a Antiguidade, as transformações mediadas por culturas de microorganismos, especialmente leveduras, foram largamente utilizadas pelo homem na produção de alimentos e bebidas. A fermentação alcoólica, por exemplo, é uma das primeiras reações químicas conhecidas pela civilização.

Mas foi Pasteur, em 1862, com a oxidação de álcool a ácido acético utilizando uma cultura pura de *Bacterium xylinum*, um dos pioneiros a estudar e tratar cientificamente uma biotransformação.²

A ação redutora do fermento de pão, *Saccharomyces cerevisiae*, foi observada primeiramente por Dumas em 1874, na liberação de ácido sulfídrico em uma suspensão do microorganismo contendo enxofre pulverizado.³

A conversão do furfural a álcool furfúrico sob condições anaeróbicas de fermentação foi a primeira “redução fitoquímica” de uma molécula orgânica descrita na literatura.⁴

Numerosas transformações microbiológicas e enzimáticas foram desenvolvidas subsequente, entre elas bioconversões, biodegradações e fermentações. Entretanto, no princípio houve uma certa rivalidade, sendo utilizadas as biotransformações na química orgânica tradicional apenas quando os “métodos químicos usuais” não produziam os resultados desejados.

Atualmente há uma forte tendência de sinergia entre as áreas, especialmente por causa da alta especificidade das reações biocatalisadas e do avanço da engenharia genética, resultando em grandes aplicações nos setores de química fina, energia e poluição ambiental.⁵

¹ Csuk, R.; Glänzer, B. *Chem. Rev.* 1991, 91, 49.

² Pasteur, L. C. R. *Hebd. Seances Acad. Sci.* 1862, 55, 28.

³ Dumas, J. B. *Ann. Chim. Phys.* 1874, 5, 3.

⁴ Windisch, W. *Wochenschr. Brau* 1898, 15, 189.

⁵ Chakrabarty, A. M. *Pure Appl. Chem.* 1988, 60, 837.

1.1.2. Transformação Microbiológica vs Fermentação

De um modo geral, os microorganismos podem ser utilizados na preparação de uma grande variedade de compostos, através de duas maneiras diferentes: transformação biológica e fermentação.⁶

Na fermentação, invariavelmente são requeridas células em crescimento, obtendo-se, a partir de fontes primárias de carbono e nitrogênio, sempre produtos naturais, que são resultado do complexo metabolismo do microorganismo. São obtidos por processos fermentativos vários compostos, tais como ácidos orgânicos, solventes, antibióticos, ácidos nucléicos e amino ácidos.⁷

Em contraste, nas transformações microbiológicas são utilizadas tanto células vivas quanto mortas, sendo o microorganismo apenas o portador das enzimas intra ou extra-celulares responsáveis pela biocatálise. Neste caso, as fontes de carbono e nitrogênio são substituídas pelos substratos desejados, viabilizando-se assim o potencial da biocatálise para uma ampla gama de substâncias *não naturais*.

Algumas características gerais de transformações microbiológicas e fermentações estão descritas na Tabela 1.1.:

Tabela 1.1: Principais diferenças entre Transformação Microbiológica e Fermentação.

	Transformação Microbiológica	Fermentação
Microorganismo	células em crescimento, em repouso ou tratadas	células em crescimento
Reação	reação catalítica simples (uma ou várias etapas)	processo vital (múltiplas etapas)
Tempo de reação	curto	longo
Materiais de partida	substratos	fontes de carbono e nitrogênio
Produto	natural ou não	natural
Concentração do produto	alta	baixa
Isolamento do produto	simples	difícil

⁶ Yamada, H.; Shimizu, S. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 622.

⁷ Kieslich, K. em "Biotechnology"; Rehm, H. J.; Reed, G.; Verlag Chemie: Weinheim, **1984**, vol. 6a, p. 387.

1.1.3. Vantagens e Desvantagens da Biocatálise⁸

1.1.3.1. Vantagens do uso de Biocatalisadores

- catalisam uma vasta quantidade de reações, tais como hidrólises, oxido-reduções, adições, eliminações, halogenações, desalogenações, alquilações, isomerizações, etc.;
- são catalisadores muito eficientes, aumentando a velocidade da reação de 10^8 a 10^{12} vezes;
- possuem alta especificidade: quimio, regio e estereosseletivos;
- atuam sob condições suaves, na faixa de pH 5 a 8 e temperaturas de 20 a 30°C à pressão atmosférica, minimizando reações paralelas de decomposição, isomerização, racemização e rearranjos;
- apresentam tolerância a uma grande variedade de substratos não naturais, e muitas vezes também a condições adversas, como por exemplo solventes orgânicos;
- são ecologicamente corretos, sendo completamente degradados pelo meio ambiente.

1.1.3.2. Desvantagens do uso de Biocatalisadores

- os biocatalisadores existem na natureza como uma única forma enantiomérica - as enzimas são constituídas de L-amino ácidos -; assim, muitas vezes é difícil obter a configuração desejada quando a reação caminha no sentido oposto;
- apresentam limitação quanto à variação de parâmetros tais como temperatura, pressão e pH, o ponto negativo de atuação apenas em condições suaves;
- possuem maior atividade catalítica em meio aquoso, contrastando com a natureza lipofílica de grande parte dos substratos;
- apresentam propensão a fenômenos de inibição pelo substrato ou pelo produto, limitando em alguns casos a eficiência do processo.

⁸ Faber, K. "Biotransformations in Organic Chemistry"; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 1997, p. 1.

1.1.4. Catálise Enzimática vs Catálise Microbiológica

As reações que envolvem biotransformações podem ser divididas em sistemas empregando enzimas isoladas ou células inteiras, com vantagens e desvantagens,^{8,9} conforme relacionado na Tabela 1.2.

A escolha do sistema biocatalítico depende de alguns fatores como o tipo de reação, a disponibilidade e eficiência do biocatalisador, a necessidade de reciclagem dos cofatores e a escala na qual será realizada a biotransformação.

Apesar de comercialmente acessíveis em número razoável nos últimos anos, os principais inconvenientes da biocatálise enzimática devem-se à dificuldade de isolamento, à de purificação e ainda à instabilidade conformacional/estrutural das enzimas no meio extra-celular. No caso de microorganismos, a facilidade de obtenção e crescimento (às vezes com auxílio de um microbiologista) é descompensada pela falta de seletividade em alguns casos e pelos baixos resultados em Tempo-Espaço-Rendimento.¹⁰

Tabela 1.2: Vantagens e desvantagens da Catálise Enzimática e Microbiológica

Biocatalisador	Vantagens	Desvantagens
Enzimas isoladas	• alta especificidade	• alto custo
	• maior produtividade	• disponibilidade em alguns casos
	• aparelhagem simples	• regeneração de cofatores
	• facilidade de isolamento dos produtos	
Células inteiras	• baixo custo	• processo em larga escala
	• regeneração dos cofatores no meio intra-celular	• reação paralelas devido ao metabolismo celular
		• menor produtividade,
		• baixa tolerância a concentração de substrato e solventes orgânicos

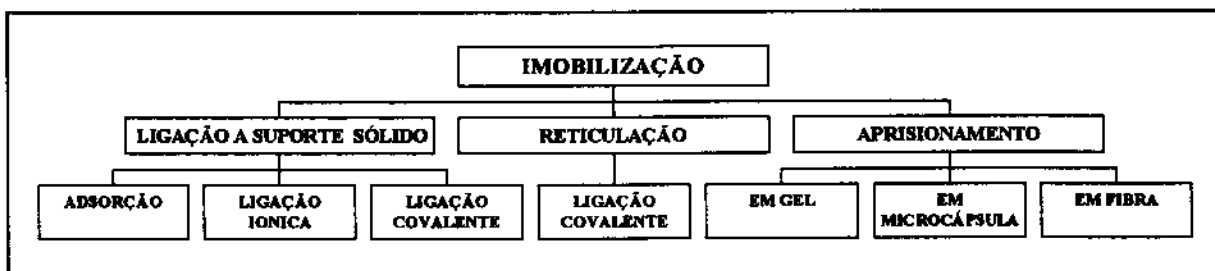
⁹ Davies, H. G.; Gren, R. H.; Kelly, D. R.; Roberts, S. M. "Biotransformations in Preparative Organic Chemistry"; Academic Press: London, 1989, p. 268.

¹⁰ Hummel, W. *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.* 1997, 58, 145.

1.1.5. Imobilização de Biocatalisadores

A imobilização tem como principal objetivo restringir a mobilidade dos biocatalisadores, proporcionando assim um aumento de produtividade e estabilidade operacional. Além disso, o uso de enzimas e células microbiais imobilizados possibilita a reutilização, diminui o tempo de reação e facilita o isolamento dos produtos.^{1,11,12}

De uma forma geral, os métodos de imobilização podem ser classificados em três categorias, conforme Esquema 1.1.



Esquema 1.1: Formas de imobilização de biocatalisadores

Dos métodos acima mencionados, a imobilização por aprisionamento, sendo a mais comum em matrizes de alginato de cálcio, apresenta como inconveniente a difusão limitada do substrato no gel. A reticulação baseada na ligação covalente entre as moléculas (ou células) do biocatalisador criando aglomerados tem como desvantagem a diminuição da atividade catalítica.

A adsorção, o mais antigo e mais simples processo, consiste na aderência dos biocatalisadores à superfície do suporte, que pode ser de natureza orgânica ou inorgânica, através de métodos físicos como atrações eletrostáticas. Os demais processos de suporte em materiais sólidos baseiam-se em ligações iônicas e covalentes com o catalisador; estes, entretanto, podem em alguns casos danificar as enzimas ou células.

Os argilominerais são materiais muito promissores como suportes, especialmente para a adsorção de microorganismos, pois apresentam uma grande área superficial; e ainda oferecem ampla capacidade de troca de cátions, sendo uma fonte rica de nutrientes para as células aderidas. Além dessas propriedades estes materiais possuem baixo custo, boa disponibilidade e facilidade de manuseio.

¹¹ a) Dervakos, G. A.; Webb, C. O. *Biotech. Adv.*, 1991, 9, 559; b) Scott, C. D. *Enzyme Microbiol. Technol.* 1987, 9, 66.

¹² Hartmeier, W. "Immobilized Biocatalysts"; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 1988, p. 14.

1.2. Importância da Biocatálise em Síntese Assimétrica

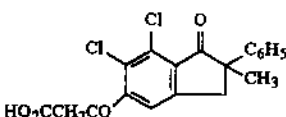
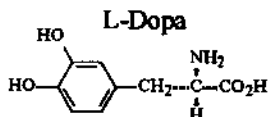
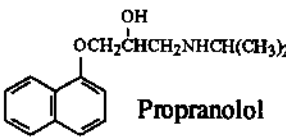
Nos últimos anos, o crescimento do interesse na produção de substâncias quirais enantiomericamente puras (*sep*) tem promovido um grande desenvolvimento da biocatálise sendo as transformações mediadas por enzimas e microorganismos amplamente empregadas em síntese orgânica.^{6,13}

Muitos esforços têm sido realizados para a aplicação de reações biológicas na preparação de fármacos,¹⁴ aditivos alimentícios¹⁵ e agroquímicos, especialmente com a importância relevada à produção de *sep* pela Food and Drug Administration (FDA) e outras agências reguladoras na Comunidade Comum Européia e no Japão.¹⁶

As possíveis vantagens terapêuticas no emprego *sep* têm aberto novas questões a respeito de eficiência e segurança, já que a atividade biológica de alguns medicamentos está associada a apenas um dos isômeros, podendo os demais exibir atividades antagônicas, colaterais ou mesmo de inércia.¹⁷ No caso dos agroquímicos, os isômeros inativos são na melhor das hipóteses um lastro aplicado gratuitamente ao meio ambiente.

A Tabela 1.3 abaixo exemplifica casos nos quais ocorrem efeitos divergentes entre os enantiômeros de alguns fármacos conhecidos:

Tabela 1.3: Efeitos biológicos diversos dos enantiômeros de alguns fármacos

Nome/Estrutura	Enantiômero Desejado	Enantiômero Indesejado
Indacrinona 	R(-) tem propriedades diuréticas	S(+) induz a excreção de ácido úrico
L-Dopa 	S(-) usado no tratamento do Mal de Parkinson	R(+) contribui para aumento dos efeitos colaterais
 Propranolol	S(-) efetivo no tratamento da angina	R(+) é inativo

¹³ Roberts, S. M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 157.

¹⁴ Stinson, S. C. *Chem. and Eng. News* **1997**, 20, 38.

¹⁵ a) Cheetham, P. S. *J. Chem. Ind.* **1995**, 265; b) Hgedorn, S.; Kaphammer, B. *An. Rev. Microbiol.* **1994**, 48, 773.

¹⁶ Caldwell, J. *Chem. Ind.* **1995**, 176.

¹⁷ Thall, E. *J. Chem. Ed.* **1996**, 6, 481.

1.3. Síntese Assimétrica Enzimática

1.3.1. Classificação das Enzimas

As enzimas são classificadas de acordo com o tipo de reação que catalisam, conforme descrito na Tabela 1.4. As oxidoreduases e as hidrolases são as mais empregadas em síntese, sendo responsáveis por 90% dos artigos publicados na área de catálise enzimática.¹⁸ Ambas podem ser utilizadas em suas formas parcial ou completamente puras, extraídas de microorganismos e vegetais ou de órgãos de mamíferos (fígado, rim, etc.).

Tabela 1.4: Classificação e utilidade sintética das enzimas

Classe	Números* classificadas	disponíveis	Reação	Uso
1. oxidoreduases	650	90	oxido-redução: oxigenação de C-C, C=C, C=O, e remoção ou adição de átomo de H.	25%
2. transferases	720	90	Transferência de grupos: aldeídos, cetonas, açúcares, fosforil, alquil.	<5%
3. hidrolases	636	125	Hidrólise/formação de ésteres, amidas, epóxidos, nitrilas, anidridos.	65%
4. liases	255	35	Adição/eliminação de pequenas moléculas a C=C, C=N, C=O	<5%
5. isomerases	120	6	Isomerizações tais como racemização e epimerização	<5%
6. ligases	80	5	Formação/clivagem de ligações C-O, C-S, C-N, C-C	<5%

* dados relativos ao ano de 1989

1.3.2. Álcool Desidrogenases (ADH)

As oxidoreduases são subdivididas em oxidases, oxigenases e desidrogenases. Dentre essas, as álcool desidrogenases (EC 1.1.1.1)¹⁸ são as enzimas responsáveis pela catálise na redução estereosseletiva de compostos carbonílicos e derivados, conforme ilustrado na Figura 1.1.

¹⁸ International Union of Biochemistry "Enzyme Nomenclature"; Academic Press: New York, 1979.

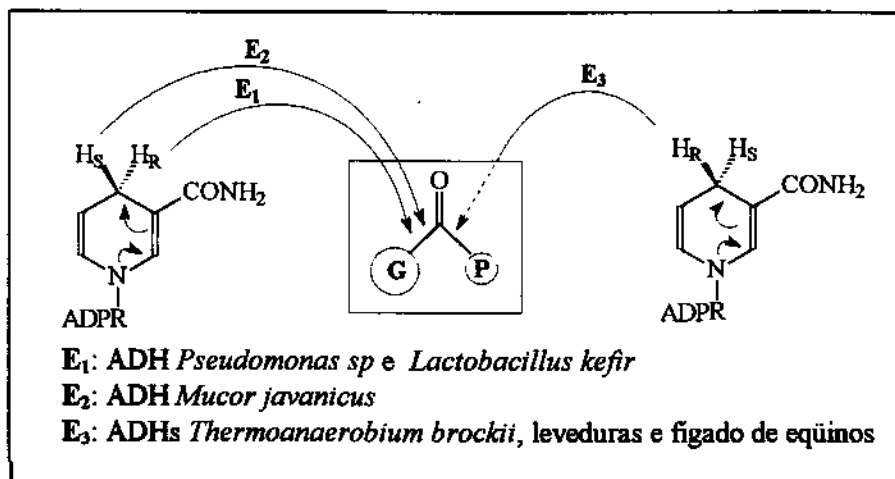


Figura 1.1: Transferência estereosseletiva de hidrogênio catalisada pelas ADHs

O processo de atuação das ADHs requer a presença de cofatores (coenzimas) que são os responsáveis pela transferência de hidrogênio, no caso das biorreduções. Devido ao alto custo, estes cofatores não são utilizados em quantidades estequiométricas, sendo necessário portanto um sistema de regeneração *in situ*.¹⁹

A maioria das ADHs utiliza cofatores nicotinamidas NAD(P)H, que podem ser reciclados através de métodos químicos ou enzimáticos. A eficiência do processo de reciclagem é medida pelo número de *turnover*.

Os métodos químicos são mais simples e baratos, entretanto têm como desvantagens a possibilidade de desativação da coenzima e o baixo *turnover*, como no caso de ditionito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$). Os métodos enzimáticos, como o sistema formiato/formiato desidrogenase (FDH), freqüentemente empregados, são mais eficazes.¹⁰

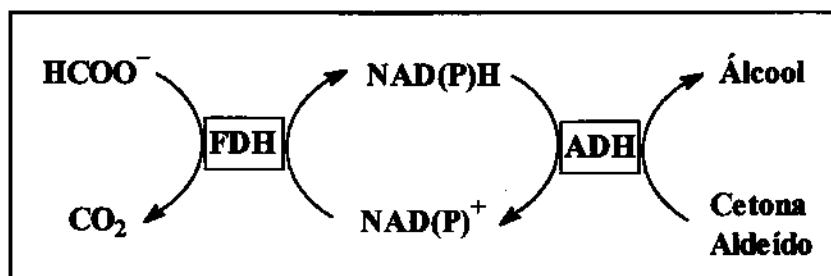


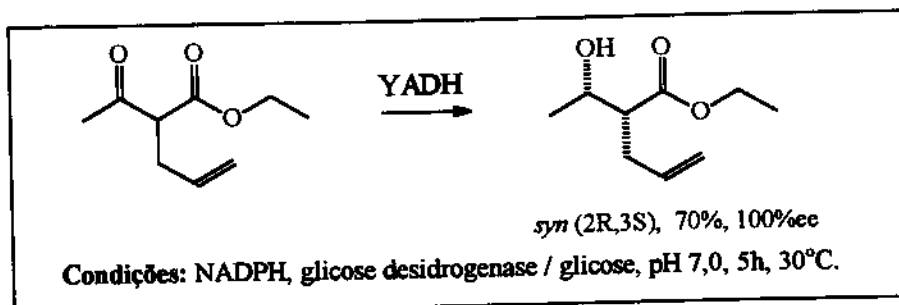
Figura 1.2: Sistema enzimático de regeneração dos cofatores utilizando formiato/FDH

¹⁹ Wong, C.-H.; Whitesides, G. M. "Enzymes in synthetic organic chemistry"; Pergamon, Elsevier Science Inc: New York, 1994.

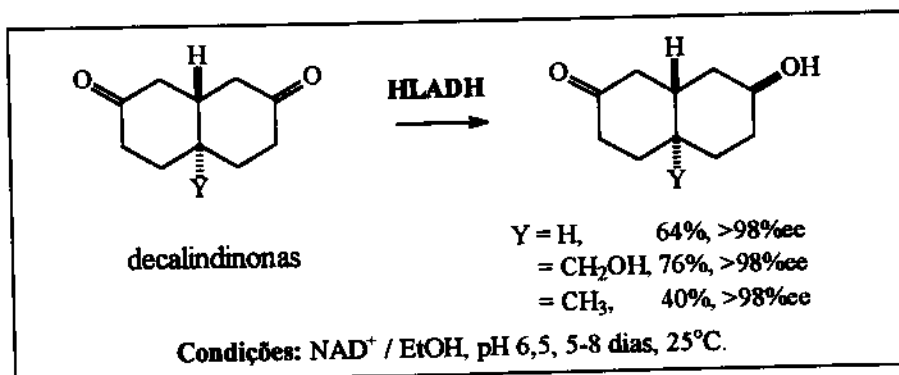
1.3.3. Reduções Assimétricas Enzimáticas

Vários trabalhos a respeito de reduções assimétricas de compostos carbonílicos utilizando enzimas, mais especificamente álcool desidrogenases, foram publicados nos últimos anos. Entre eles podem-se destacar alguns exemplos de aplicação de enzimas provenientes de leveduras (YADH), de fígado de equinos (HLADH) e de outros seres inferiores.

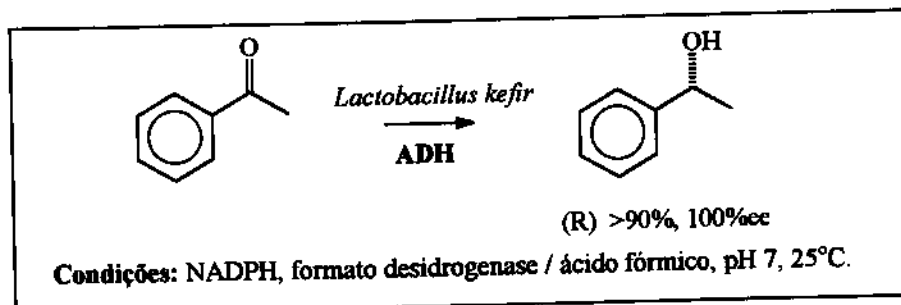
- Nakamura e col.²⁰



- Jones e col.²¹



- Hummel e col.²²



²⁰ Nakamura, K.; Miyai, T.; Kawai, Y.; Nakajima, N.; Ohno, A.; *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1159.

²¹ Doods, D. R.; Jones, J. B.; *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 577.

²² Seelbach, K.; Riedel, B.; Hummel, W.; Kula, M.-R.; Tishkov, V. I.; Egorov, A. M.; Wandrey, C.; Kragl, U. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1377.

- Wong e col.²³

$$\text{X}-\text{CH}(\text{OH})-\text{Y}$$

>95%ee

Lactobacillus kefir
Pseudomonas sp.

← ADHs

$$\text{X}-\text{C}(=\text{O})-\text{Y}$$

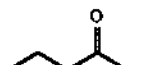
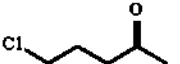
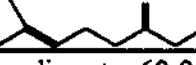
Thermoanaerobium brockii

→ ADH

$$\text{X}-\text{CH}(\text{OH})-\text{Y}$$

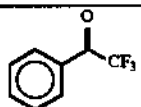
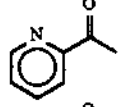
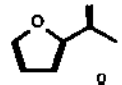
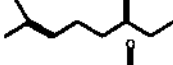
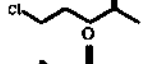
>95%ee

Condições: NADPH / 2-propanol, pH 7,0, 12-36 horas, t.amb.

substrato	TBADH		PADH	
	%ee	configuração	%ee	configuração
	79	S	97	R
	98	S	>98	R
	99	S	>98	R
	99	S	>98	R

* rendimento: 60-95%

- Wong & Hummel²⁴

substrato	% rend.	% ee	configuração
	71	>99	S
	60	>97	R
	65	95	R
	58	>99	R
	52	>97	R
	46	>97	R
	39	>97	R
	25	94	R
* <i>Lactobacillus kefir</i> ADH			

²³ Shen, G.-J.; Wang, Y.-F.; Bradshaw, C.; Wong, C.-H.; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1990, 677.

²⁴ Bradshaw, C. W.; Hummel, W.; Wong, C.-H. *J. Org. Chem.* 1992, 57, 1532.

1.4. Síntese Assimétrica Microbiológica

1.4.1. Considerações Gerais

Dentre os microorganismos utilizados em biorreações assimétricas, destacam-se os fungos, leveduras e bactérias. A escolha do tipo de microorganismo mais adequado para cada caso é influenciada fundamentalmente pela sua especificidade em relação ao substrato e à reação desejada, mas devem-se levar em consideração a disponibilidade, o manuseio e a patologia do mesmo.

De uma forma geral, os microorganismos se adaptam bem a novos ambientes e apresentam altas velocidades de crescimento, o que facilita o seu cultivo e uso em grande escala com baixo custo. Além disso, são fontes naturais de um grande número de enzimas e realizam o processo de regeneração dos cofatores através do próprio metabolismo celular.

O procedimento mais comum nas reações microbiológicas é o emprego de sistemas com culturas de células em crescimento; entretanto, também são importantes as transformações com células em repouso (meio tamponado e sem adição de nutrientes), com células imobilizadas e com esporos. O sistema ideal depende da fisiologia, metabolismo e biossíntese de cada microorganismo.⁶

Um dos problemas decorrentes da utilização de células inteiras, é que o processo algumas vezes é apenas parcialmente estereosseletivo, devido à competição a velocidades diferentes de duas ou mais enzimas gerando isômeros de configurações opostas.²⁵

Existem outros argumentos contrários ao uso de microorganismos, tais como a reprodutibilidade - já que a atividade microbiana varia de uma cepa para outra -, ou o fato de as biorreações serem processos intrinsecamente "sujos" devido à quantidade de substâncias tais como massa celular, nutrientes, suportes e metabólitos usuais, contidas no meio reacional além de reagentes e produtos.²⁶

Entretanto, vários métodos alternativos, como por exemplo o uso de biorreatores de fluxo contínuo,^{27,28} têm sido extensivamente estudados visando aumentar a produtividade, controlar reações paralelas e simplificar o processo de uma maneira geral.

²⁵ Sih, C. J.; Chen, C.-S. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 570.

²⁶ Servi, S. *Synthesis* **1990**, *1*.

²⁷ Abdul, M.M. *Bio/Technology* **1993**, *11*, 690.

²⁸ Wendhausen Jr.; R.; Moran, P. J. S.; Joëkes, I.; Rodrigues, J. A. R. *J. Mol. Catal. B: Enzim.* **1998**, *5*, 57.

1.4.2. *Saccharomyces cerevisiae*

O *Saccharomyces cerevisiae*, encontrado no fermento de pão, está entre os microorganismos mais utilizados em biotransformações envolvendo oxido-redução.^{1,26,29} Essa levedura de crescimento aeróbico possui habilidade de dispersar-se rapidamente em água e tem como principais atributos a facilidade de obtenção (600.000 ton/ano), o armazenamento e a utilização. Além disso ainda é bastante resistente, capaz de desenvolver-se numa faixa de pH de 2,5 a 8,5 e a uma temperatura de 5 a 40°C.

Nos últimos anos foram publicados, especialmente por Nakamura e colaboradores, vários trabalhos enfatizando o controle estereoquímico das reações com *S. cerevisiae*, entre os quais se destacam o uso de solventes orgânicos como meio reacional,³⁰ a adição de inibidores enzimáticos,³¹ a variação do pH³² e da temperatura,³³ modificações na estrutura do substrato (i.e. variação de grupos ésteres)³⁴ e o uso de células imobilizadas.³⁵

Sistemas utilizando *S. cerevisiae* imobilizado em argilominerais como crisotila e montmorilonita (constituídos basicamente de silicatos de magnésio e alumínio) mostraram um substancial aumento nos excessos enantioméricos e no rendimento das biorreduções quando comparados com células livres (Seção 1.1.5.).³⁶

O conhecimento a respeito da atividade específica do *S. cerevisiae* ainda é bastante limitado, sendo poucos os trabalhos que procuram comparar a atividade de enzimas isoladas em relação ao sistema celular intacto do microorganismo.^{31,37} A fim de que possa haver uma melhor exploração da estereosseletividade nas biotransformações, torna-se essencial a compreensão deste processo num futuro próximo.

²⁹ Santaniello, E.; Ferraboschi, P.; Grisenti, P.; Manzocchi, A. *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1071.

³⁰ a) North, M. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1699; b) Cui, J.-N.; Teraoka, R.; Ema, T.; Sakai, T.; Utaka, M. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3021; c) Nakamura, K.; Kondo, S.; Kawai, Y.; Ohno, A. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7075; d) Haag, T.; Arslan, T.; Seebach, D. *Chimia* **1989**, *43*, 351.

³¹ a) Nakamura, K.; Nakajima, N.; Kawai, Y.; Ohno, A. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4778; b) Nakamura, K.; Kawai, Y.; Ohno, A. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 267.

³² a) Fadnavis, N. W.; Vadivel, S. K.; Bhalarao, U. T. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 2355; b) Fantin, G.; Fogagnolo, M.; Guerzoni, M. E.; Medici, A.; Pedrini, P.; Poli, S. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 924.

³³ Nakamura, K.; Kawai, Y.; Ohno, A. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 2927.

³⁴ a) Nakamura, K.; Kawai, Y.; Miyai, T.; Honda, S.; Nakajima, N.; Ohno, A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1991**, *64*, 1467; b) Nakamura, K.; Miyai, T.; Nagar, A.; Oka, S.; Ohno, A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1989**, *62*, 1179.

³⁵ Nakamura, K.; Kawai, Y.; Oka, S.; Ohno, A. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 2245.

³⁶ a) Sorrilha, A. E. P. M.; Marques, M.; Joekes, I.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R. *BioMed. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 191; b) Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R.; Joekes, I.; Brenelli, E. C. S.; Leite, R. A. *Biocatalysis*. **1994**, *9*, 321.

³⁷ a) Shieh, W. R.; Sih, C. J. *Tetrahedron: Asymmetry*. **1993**, *4*, 1259; b) Shieh, W. R.; Gopalan, A. S.; Sih, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 2993.

1.4.3. Reduções Assimétricas Microbiológicas

As reduções microbiológicas empregando *Saccharomyces cerevisiae* são certamente as biotransformações mais utilizadas em síntese orgânica. O mecanismo de redução envolve, como no caso das álcool desidrogenases (Seção 1.3.2.), uma transferência estereosseletiva de hidrogênio a uma das faces de uma carbonila (ou dupla ligação C=C) pró-quiral, neste caso, acoplado ao processo de regeneração de NAD(P)H utilizando uma fonte de energia (açúcar), conforme ilustra a Figura 1.3:

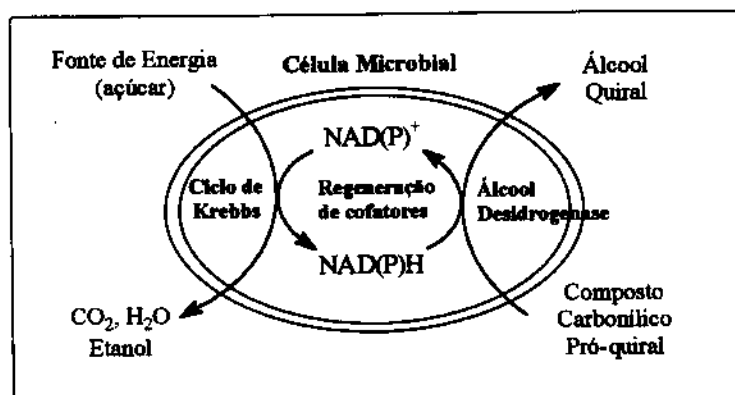
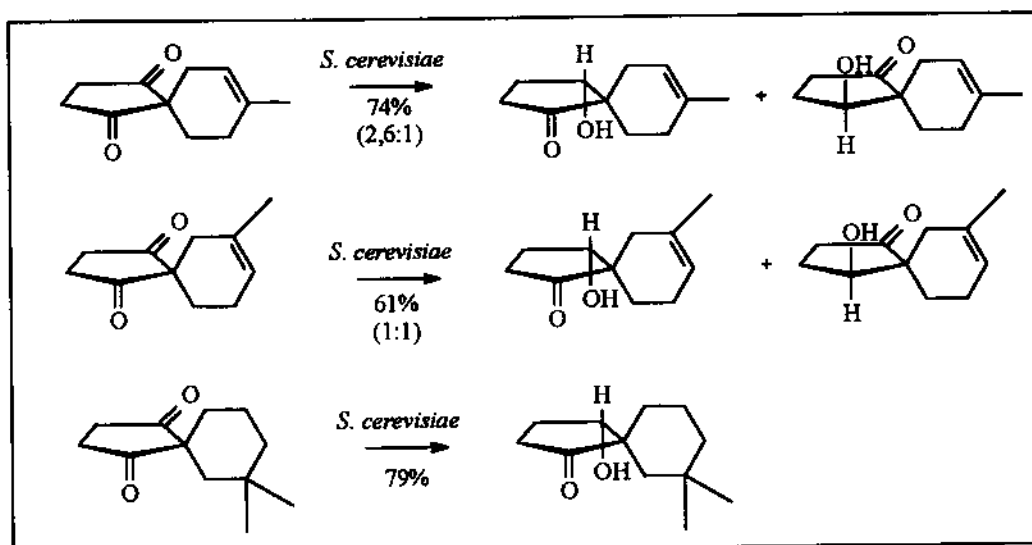


Figura 1.3: Princípio da redução estereosseletiva de um composto carbonílico por *S. cerevisiae*

Como exemplos recentes da aplicação de *S. cerevisiae* na biorredução enantiosseletiva de compostos carbonílicos e metilênicos, podem-se destacar:

- Zhu & Burnell³⁸



³⁸ Zhu, Y.-Y.; Burnell, D. J. *Tetrahedron: Asymmetry*. 1996, 7, 3295.

• Demuth e col.³⁹

$R-C(=O)-CH_2-CH_2-C(=O)OEt \xrightarrow[n=0,1]{S. cerevisiae} R-CH(OH)-CH_2-CH_2-C(=O)OEt$

R/S

Compostos	HEXANO		TOLUENO		ÉTER		AC. ETILA		ÁGUA	
	conv (%)	ee (%)	conv (%)	ee (%)	conv (%)	ee (%)	conv (%)	ee (%)	conv (%)	ee (%)
	100	100(S)	80	100(S)	99	97(S)	97	89(S)	100	93(S)
	100	93(S)	100	100(S)	84	77(S)	39	57(S)	100	96(S)
	100	77(S)	66	76(S)	58	30(S)	8	12(R)	100	2(S)
	66	2(S)	16	27(R)	23	43(R)	5	65(R)	100	86(R)
	93	28(R)	98	73(R)	97	64(R)	79	42(R)	100	14(S)

• Smallridge e col.⁴⁰

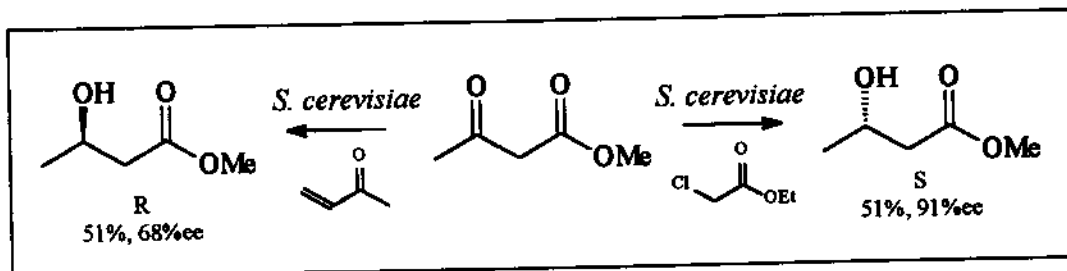
$R-C(=O)-CH_2-CH_2-C(=O)OR \xrightarrow[\text{éter de petróleo}]{S. cerevisiae} R-CH(OH)-CH_2-CH_2-C(=O)OR$

R	levedura (g/mmol)	rend.(%)	ee (%)	rend.(ee)/ÁGUA
Me	1	57	98(S)	23(87)
Et	1	69	99(S)	76(85)
iPr	2	96	97(S)	N/A
nBu	3	89	>99(S)	58(90)
tBu	11	68	98(S)	61(85)
sBu	4	89	97(S)	45(14)
Bn	5	72	94(S)	N/A

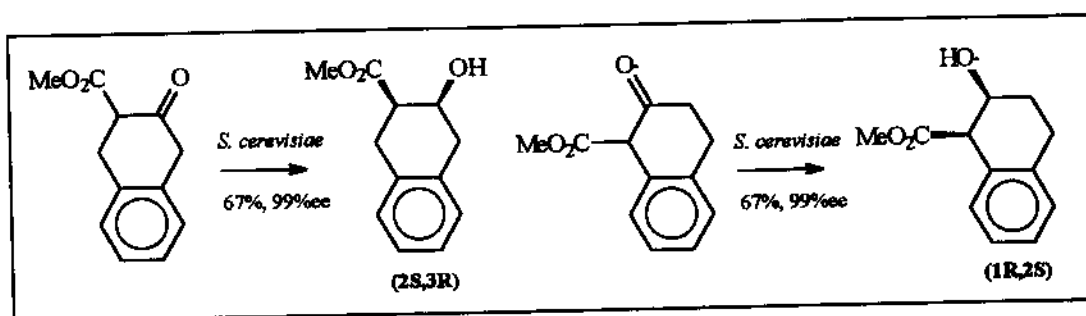
³⁹ Rotthaus, O. Krüger, D.; Demuth, M.; Schaffner, K. *Tetrahedron* 1997, 53, 935.

⁴⁰ Medson, C.; Smallridge, A. J.; Trehwella, M. A. *Tetrahedron: Asymmetry* 1997, 8, 1049.

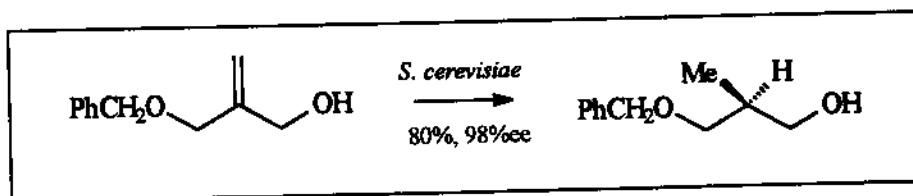
- Nakamura e col.³¹



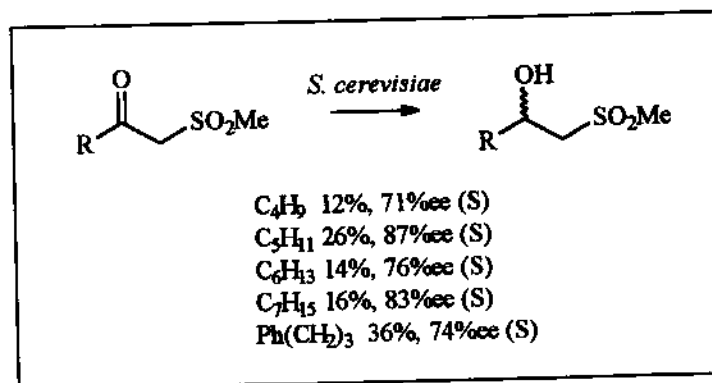
- Azerad e col.⁴¹



- Santaniello e col.⁴²



- Maguire & Lowney⁴³



⁴¹ Abalain, C.; Buisson, D.; Azerad, R. *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, 7, 2983.

⁴² Ferraboschi, P.; Elahi, S. R. T.; Verza, E.; Meroni-Rivolla, F.; Santaniello, E. *Synlett* **1996**, 1176.

⁴³ Maguire, A. R.; Lowney, D. G. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1997**, 235.

1.4.4. Regra de Prelog

A partir de estudos realizados sobre a biorredução de cetonas alicíclicas com culturas de *Curvularia falcata*, em 1964 Prelog⁴⁴ observou que a estereosseletividade da reação dependia do tamanho dos grupos diretamente ligados à carbonila, como representado através do modelo na Figura 1.4.

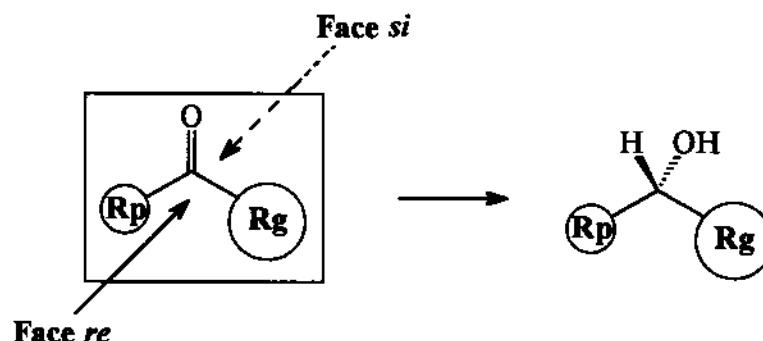


Figura 1.4: Regra de Prelog para biotransformações de compostos carbonílicos, onde Rg=grupo grande e Rp=grupo pequeno

Neste modelo, os grupos Rg e Rp adjacentes à carbonila representam respectivamente os grupos grande e pequeno. O curso estereoquímico da reação ocorre via transferência de hidrogênio à cetona pró-quiral pela “face re” no caso de *Saccharomyces cerevisiae* e *Thermoanaerobium brockii*, e pela “face si” no caso de *Mucor javanicus*, *Pseudomonas sp* e *Lactobacillus kefir*.¹⁰

A sequência de prioridades para atribuir as configurações das faces enantiotópicas da carbonila é a seguinte: $O > Rg > Rp$. Entretanto é necessária uma certa cautela, pois essa sequência nem sempre coincide com a convenção de Cahn-Ingold-Prelog (ordem de número atômico). Deve-se utilizar a sequência de Prelog, portanto, apenas para determinar em qual das faces se dará a transferência do hidrogênio, fazendo sempre a atribuição da configuração dos produtos formados pela regras de Cahn-Ingold-Prelog.

Embora as regras de Prelog sejam empíricas, é possível utilizá-las para prever de maneira geral a enantiosseletividade de uma biotransformação. Contudo, existem algumas exceções devido à simplicidade do modelo, o que sugere cuidado na aplicação dessas regras de forma absoluta.

⁴⁴ Prelog, V.; *Pure Appl. Chem.* 1964, 9, 119.

1.5. Síntese Assimétrica de β -hidroxi- α -amino ácidos e α -amino álcoois

Os principais métodos de obtenção de amino ácidos e derivados são: hidrólise e extração de proteínas, fermentações, biotransformações e via síntese química. A grande maioria é obtida a partir de processos fermentativos, entretanto a produção de amino ácidos *não naturais* opticamente puros através de biotransformações vem-se expandindo constantemente nos últimos anos.⁷

Dentre os amino ácidos *não naturais* e derivados que apresentam atividade biológica relevante, os β -hidroxi- α -amino ácidos e α -amino álcoois despertaram interesse devido à sua importância como componentes de peptídeos biologicamente ativos (i.e. Hormaomicina, Astinas, Viscosina, Equinocandinas, S-520, Vancomicina, Ristocetina A, Teicoplanina, Bouvardina, Ciclosporina A), como inibidores enzimáticos e como precursores de antibióticos tipo cloranfenicol e β -lactamas.⁴⁵ Além disso, são largamente utilizados em síntese orgânica como intermediários e auxiliares quirais⁴⁶ e oferecem um desafio considerável em termos de controle estereoquímico e métodos sintéticos eficientes.

Recentemente foram publicados vários métodos de síntese enantiosseletiva de β -hidroxi- α -amino ácidos e α -amino álcoois envolvendo processos químicos: condensação aldólica diastereosseletiva de compostos quirais,⁴⁷ aminação eletrófila assimétrica,⁴⁸ hidroxilação eletrófila de enolatos quirais,⁴⁹ dihidroxilação assimétrica de olefinas,⁵⁰ abertura de anel de epóxidos enantiomericamente puros⁵¹ e de oxazolidinonas quirais,⁵² entre outros.

⁴⁵ a) Wipf, P. *Chem. Rev.* 1996, 96, 2115; Duthaler, R. O. *Tetrahedron* 1994, 50, 1539; b) Zindel, J.; Kijere, A. *J. Org. Chem.* 1995, 60, 2968; c) Morita, H.; Nagashima, S.; Takeya, K.; Itokawa, H. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1995, 60, 2968; d) Rössner, E.; Zeeck, A.; König, W. A. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 1990, 29, 64; e) Williams, R. M.; Sinclair, P. J.; Zhai, D.; Chen, D. *J. Am. Chem. Soc.* 1988, 110, 1547; f) "Amino Acids, Peptides and Proteins." Specialist Periodical Reports, Chem. Soc. London, 1968-1995; vol.1-28.

⁴⁶ Ager, D. J.; Prakash, I.; Schaad, D. R. *Chem. Rev.* 1996, 96, 835.

⁴⁷ a) Okonya J. F.; Kolasa, T.; Miller, M. J. *J. Org. Chem.* 1995, 60, 1932; b) Wipf, P.; Miller, C.P. *J. Org. Chem.* 1993, 58, 1575; c) Williams, R. M. "Synthesis of Optically Active α -Amino Acids"; Pergamon: Oxford 1989.

⁴⁸ Evans, D. A.; Britton, T. C.; Ellman, J. A.; Dorow, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 4011;

⁴⁹ a) Bunlage, M. E.; Burke, A. J.; Davies, S. G. *Tetrahedron: Asymmetry* 1995, 6, 165; b) Davis, A. D.; Reddy, R. T.; Reddy, R. D. *J. Org. Chem.* 1992, 57, 6387.

⁵⁰ a) Kolb, H. C.; VanNieuwenhze, M. S.; Sharpless, K. B. *Chem. Rev.* 1994, 94, 2483; b) Shao, H.; Godman, M. *J. Org. Chem.* 1996, 61, 2582; c) Wang, Z. M.; Sharpless, K. B. *J. Org. Chem.* 1994, 59, 8302.

⁵¹ Schmidt, U.; Respondek, M.; Lieberknecht, A.; Werner, J.; Fischer, P. *Synthesis* 1989, 256.

⁵² a) Delle Monache, G.; Di Giovanni, M. C.; Misiti, D.; Zappia, G. *Tetrahedron Asymmetry* 1997, 8, 7337; b) Misiti, D.; Zappia, G.; Delle Monache, G. *Liebigs Ann. Chem.* 1996, 235.

Analogamente, nos últimos anos foram publicados diversos trabalhos envolvendo a síntese de β -hidroxi- α -amino ácidos e α -amino álcoois opticamente ativos através de biotransformações,⁶ como a resolução enzimática de racematos,³³ a condensação estereoespecífica de compostos aquirais, a bioconversão de precursores quirais ou pró-quirais⁵⁴ e a aminação redutiva ou a transaminação de β -cetoácidos.⁵⁵

Recentemente foi realizada a síntese enantiospecífica do β -hidroxi- α -amino ácido diretamente ligado do glicopeptídeo correspondente ao antibiótico Vancomicina, utilizando-se uma biorredução com *Saccharomyces cerevisiae*.⁵⁶

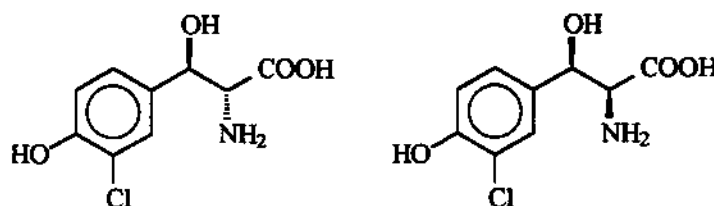


Figura 1.5: β -hidroxi- α -amino ácidos sintetizados via biorredução com *S. cerevisiae*

⁵³ a) Stecher, H.; Faber, K. *Synthesis* **1997**, 1; b) Chen, S.-T.; Huang, W.-H.; Wang, K.-T. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 7580; c) Honig, H.; Seufer-Waserthal, P.; Weber, H. *Tetrahedron* **1990**, 46, 3841.

⁵⁴ Patel, R. N.; Banerjee, A.; Howell, J. M.; McNamee, C. G.; Brozowski, D.; Mirfakhrae, D.; Nanduri, V.; Thottathie, J. K.; Szarka, L. J. *Tetrahedron: Asymmetry* **1993**, 4, 2069.

⁵⁵ a) Sutherland, A.; Willis, C. L. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 1837; b) Kelly, N. M.; Reid, R. G.; Willis, C. L.; Winton, P. L. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 1517.

⁵⁶ Fadnavis, N. W.; Vadivel, S. K.; Sharfuddin, M.; Bhalerao, U. T. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, 8, 4003.

2. Objetivos

Nosso grupo de pesquisa vem desenvolvendo metodologias de redução assimétrica de compostos carbonílicos com *Saccharomyces cerevisiae*⁵⁷ sendo interessante a possibilidade de aplicação dessas reações na síntese de β -hidroxi- α -aminoácidos e α -aminoálcoois a partir dos respectivos β -cetoésteres.

O objetivo geral deste trabalho é investigar a possibilidade de obtenção estereoespecífica de intermediários quirais para a síntese de β -hidroxi- α -aminoácidos e α -aminoálcoois, apresentada na Tabela 2.1 e no Esquema de Síntese da Figura 2.1. A etapa-chave nessa rota de síntese é a biorredução enantiosseletiva dos compostos α -nitrogenados derivados de β -cetoésteres utilizando *S. cerevisiae*, obtido a partir de fermento de pão comercial, imobilizado em montmorilonita K10.

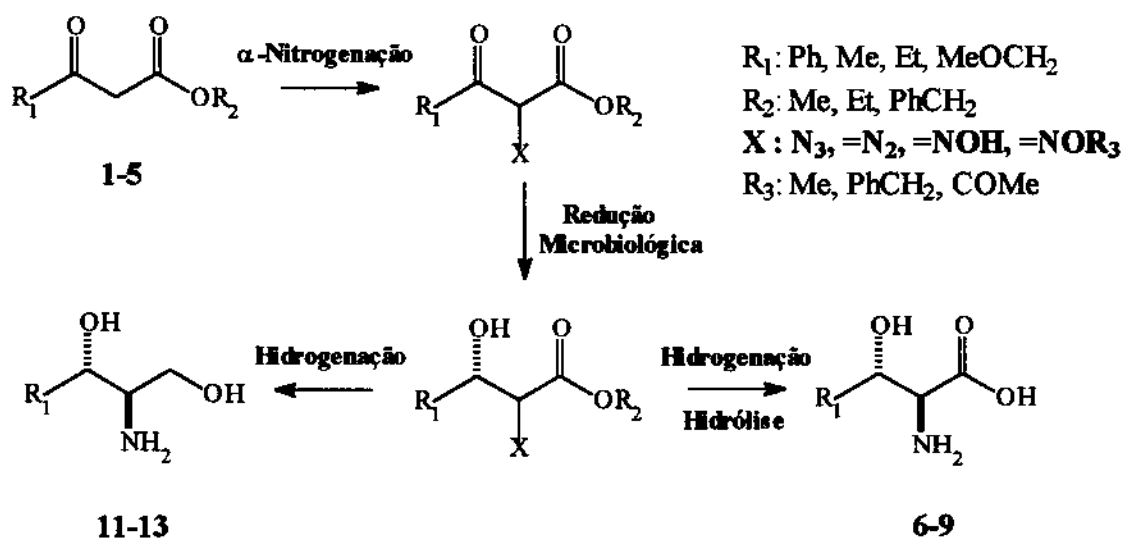
A escolha da redução microbiológica na etapa fundamental deve-se aos seguintes argumentos:

- o microorganismo escolhido, *S. cerevisiae*, é disponível comercialmente e muito mais barato que os reagentes redutores quirais;
- o processo que emprega esse microorganismo é de fácil manuseio e simples operação, não havendo necessidade de utilização de equipamentos especiais nem de conhecimentos técnicos de microbiologia;
- este processo torna-se ainda mais simples quando se utiliza o microorganismo imobilizado, principalmente devido à sua estabilidade operacional e à facilidade de isolamento dos produtos;
- a utilização de montmorilonita K10 como suporte rendeu bons resultados nas reduções assimétricas de compostos carbonílicos e derivados em nosso laboratório.

⁵⁷ a) Kreutz, O. C.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 2649; b) Carvalho, M.; Okamoto, M.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 2073; c) Brenelli, E. C. S.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R. *Synth. Commun.* **1990**, *20*, 261; d) Aleixo, L. M.; Carvalho, M.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R. *BioMed. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 1637; e) Brenelli, E. C. S.; Carvalho, M.; Okubo, M. T.; Marques, M.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R.; Sorrilha, E. P. M. *Indian J. Chem.* **1992**, *31B*, 821.

Tabela 2.1: Síntese β -hidroxi- α -amino ácidos 6-9 e α -amino álcoois 10-13 a partir de β -cetoésteres

β -cetoéster			β -hidroxi- α -amino ácido	β -hidroxi- α -amino álcool
	R_1	R_2		
1	Ph	Et	6 β -fenilserina	10 2-amino-3-fenil-1,3-propanodiol
2	Me	Et	7 treonina	11 2-amino-1,3-butanodiol
3	Et	Me	8 γ -metil-treonina	12 2-amino-1,3-pentanodiol
4	MeOCH ₂	Me	9 γ -metoxi-metil-teonina	13 2-amino-4-metoxi-1,3-butanodiol
5	Me	PhCH ₂	7 treonina	11 2-amino-1,3-butanodiol

Figura 2.1: Esquema de síntese proposto para β -hidroxi- α -amino ácidos e α -amino álcoois.

3. Resultados e Discussões

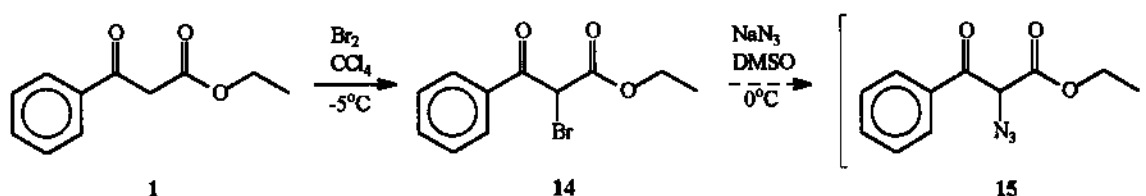
3.1. Preparação dos compostos α -nitrogenados derivados de β -ceto ésteres

3.1.1. Síntese do α -azido- β -ceto éster

A tentativa de síntese do α -azido- β -ceto éster 15 baseou-se na substituição nucleofílica do azoteto de sódio⁵⁸ no 2-bromo-3-fenil-3-oxo-propionato de etila 14, em DMSO (também acetona, acetonitrila, etanol e ácido acético catalítico) e baixa temperatura (0 a -72°C). Apesar da absorção no IV característica do grupo azido em 2100 cm⁻¹, o produto foi isolado como uma mistura complexa de difícil caracterização e purificação, inviabilizando dessa forma a utilização nas reduções microbiológicas de azido cetoésteres.

É importante considerar que existem outros métodos para a síntese de α -azido cetoésteres, utilizando reagentes mais elaborados como os compostos de iodo hipervalente iodosobenzeno e hidroxil(tosiloxi)iodosobenzeno com trimetilsililazida, entretanto com rendimentos relativamente baixos, como descrito por Moriarty e col..⁵⁹

Alternativamente, decidiu-se fazer a biorredução do α -bromo éster 14, e posteriormente a reação de substituição do halogênio pelo grupo azido. O α -bromo éster foi sintetizado a partir do benzil acetoacetato de etila 1, com Br₂ em CCl₄ a -5°C em 73% de rendimento.⁶⁰



Esquema 3.1: Tentativa de síntese do 2-azido-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, 15.

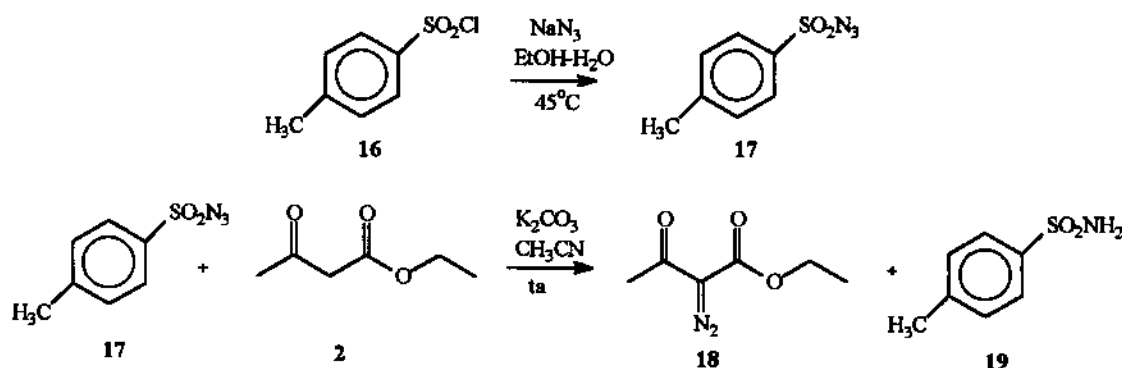
⁵⁸ Besse, P.; Veschambre, H. *Tetrahedron: Asymmetry* 1993, 4, 1271.

⁵⁹ Moriarty, R. M.; Vaid, R. K.; Ravikumar, V. T.; Vaid, B. K.; Hopkins, T. E. *Tetrahedron*. 1988, 44, 1603.

⁶⁰ Howk, B. W.; McEvlain, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* 1932, 54, 282.

3.1.2. Síntese do α -diazó- β -ceto éster

A síntese do 2-diazo-3-oxo-butanoato de etila **18** foi efetuada através da transferência de diazo da tosil azida **17** para o acetoacetato de etila **2**, sob condições levemente básicas, com K_2CO_3 em acetonitrila,⁶¹ em 83% de rendimento. A tosil azida foi preparada a partir do cloreto de tosil **16** e azoteto de sódio em etanol-água a 45°C com rendimento de 71%.⁶²



Esquema 3.2: Síntese do 2-diazo-3-oxo-butanoato de etila, **18**

3.1.3. Síntese dos α -oximas- β -ceto ésteres

A síntese das α -oximas (ou α -hidroxiliminos), **20-24**, foi realizada através da nitrosação dos β -ceto ésteres, **1-5**, com $NaNO_2$ em ácido acético glacial à temperatura ambiente.⁶³ A reação envolve um ataque do íon nitrosônio, formado na acidificação da solução aquosa de nitrito de sódio, à ligação dupla $C=C$ da forma enólica em equilíbrio do β -cetoéster. Ocorre a formação do intermediário isonitroso, que se isomeriza imediatamente para a respectiva oxima.

Os produtos foram isolados como mistura de isômeros *E/Z* (RMN- 1H), majoritariamente na forma *Z*, conforme descrito na Tabela 3.1.

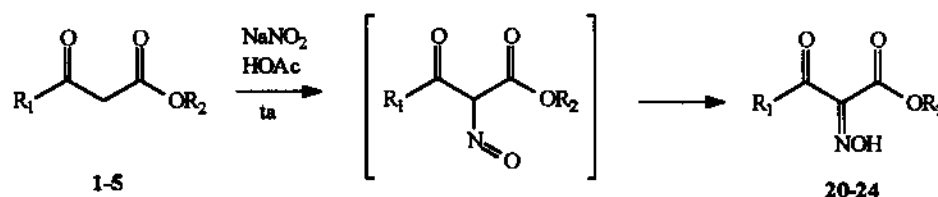
⁶¹ Koskinen, A. M. P.; Muñoz, L. J. *Chem. Soc., Chem. Commun.* **1990**, 652.

⁶² Regitz, M.; Hocker, J.; Liedhegener, A. *Org. Synth. Coll. Vol.* **5**, **1973**, 179.

⁶³ Adkins, H.; Reeve, E. W.; *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, **60**, 1328.

Tabela 3.1: Síntese dos 2-hidroxilimino-3-oxo-propionatos de alquila, 20-24

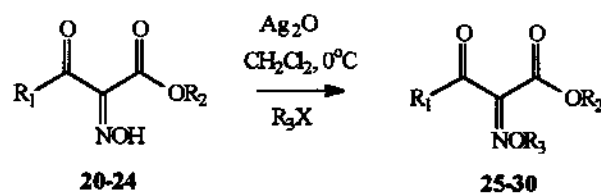
Composto	R ₁	R ₂	Produto	Rend.(%)	Prop. E:Z
1	Ph	Et	20	87	2:98
2	Me	Et	21	82	8:92
3	Et	Me	22	84	8:92
4	MeOCH ₂	Me	23	51	12:88
5	Me	CH ₂ Ph	24	92	9:91



Esquema 3.3: Síntese dos 2-hidroxilimino-3-oxo-propionatos de alquila, 20-24

3.1.4. Síntese dos α -O-alkil oximas- β -ceto ésteres

As α -O-alkil oximas (ou α -alcóxiliminos) **25-30**, foram sintetizadas através da alquilação das respectivas α -oximas, **20-24**, utilizando óxido de prata e como agente alquilante (R_3X) iodeto de metila ou cloreto de benzila em CH_2Cl_2 a 0°C alcançando excelentes resultados,⁶⁴ conforme descrito na Tabela 3.2. Os diastereoisômeros *E/Z* obtidos foram separados por CLME (Coluna Líquida de Média Eficiência).



Esquema 3.4: Síntese dos 2-alcóxilimino-3-oxo-propionatos de alquila, 25-30

⁶⁴ Buehler, E.; *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 261.

Tabela 3.2: Síntese dos 2-alcoxilimino-3-oxo-propionatos de alquila, 25-30

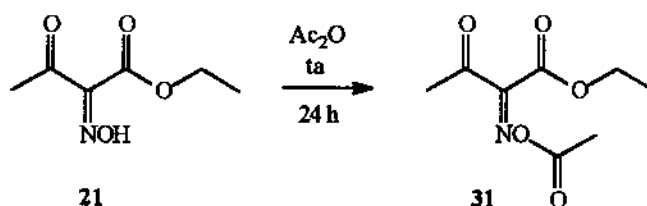
Composto	R ₁	R ₂	R ₃ X	Produto	Rend.(%)	Prop. E:Z
20	Ph	Et	MeI	25	96	95:5
21	Me	Et	MeI	26	97	36:64
22	Et	Me	MeI	27	93	25:75
23	MeOCH ₂	Me	MeI	28	85	13:87
24	Me	PhCH ₂	MeI	29	94	19:81
20	Me	Et	PhCH ₂ Cl	30	86	45:55

É interessante notar que, apesar de a reação de alquilação ocorrer com formação majoritária de *Z*, a proporção diastereoisomérica dos produtos não está vinculada à das α -oximas de partida, sendo de aproximadamente 1:1 em **30** quando R₃ é igual a benzila, e no caso extremo em **25** quando R₁ é a fenila.

Uma possível explicação seria devido a existência do tautomerismo oxima-isonitroso em que as formas *E* e *Z* estariam interconvertendo-se, mas com o equilíbrio deslocado no sentido de formação do isômero *Z*. Este equilíbrio tautomérico foi desfavorecido quando estas oximas foram alquiladas, sendo obtidos então isômeros termoeestáveis *E* e *Z* que puderam neste caso inclusive ser isolados.

3.1.5. Síntese do α -O-acil oxima- β -ceto éster

A síntese do 2-acetiloxima-3-oxo-butanoato de etila **31** foi realizada via acilação do α -oxima- β -ceto éster **21**, com anidrido acético à temperatura ambiente por 24 horas, obtendo-se exclusivamente o isômero *Z*, com rendimento de 91%.

Esquema 3.5: Síntese do 2-acetoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, **31**

3.2. Estereoquímica E/Z das oximas e derivados

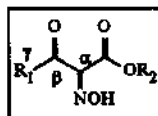
A configuração diastereoisomérica *E/Z* das oximas e *O*-alquil (ou *O*-acil) oximas foi proposta segundo um estudo sistemático utilizando espectroscopia de RMN-¹³C e Infravermelho.

3.2.1. Espectroscopia de RMN

As Tabelas 3.3 e 3.4 a seguir mostram os deslocamentos químicos em RMN-¹³C relativos a C_γ das α-oximas 20-24, e α-*O*-alquil (ou *O*-acil) oximas 25-31.

Tabela 3.3: Deslocamento químico (δ) em RMN-¹³C de oximas R₁COC(=NOH)CO₂R₂

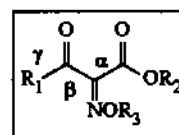
R ₁	R ₂	Comp.	C _γ (δ)	Comp.*	C _γ (δ)
Ph	Et	(Z)-20	134,16		
Me	Et	(Z)-21	25,09	(E)-21	30,04
Et	Me	(Z)-22	30,94	(E)-22	35,98
MeOCH ₂	Me	(Z)-23	73,63	(E)-23	77,16
Me	PhCH ₂	(Z)-24	25,09	(E)-24	30,07



* dados referentes ao isômero minoritário nos espectros de RMN.

Tabela 3.4: Deslocamento químico (δ) em RMN-¹³C de oximas R₁COC(=NOR₃)CO₂R₂

R ₁	R ₂	R ₃	Comp.	C _γ (δ)	Comp.	C _γ (δ)
Ph	Et	Me	(Z)-25	134,86	(E)-25	135,95
Me	Et	Me	(Z)-26	24,74	(E)-26	29,67
Et	Me	Me	(Z)-27	30,72	(E)-27	35,89
MeOCH ₂	Me	Me	(Z)-28	73,28	(E)-28	76,87
Me	PhCH ₂	Me	(Z)-29	24,95	(E)-29	29,78
Me	Et	PhCH ₂	(Z)-30	25,08	(E)-30	30,09
Me	Et	MeCO	(Z)-31	25,85	(E)-31	



A caracterização espectroscópica por RMN de oximas não simétricas do tipo X-C(=NOH)-Y tem sido determinada, quando X e Y são substituintes alquila e derivados como haletos, éteres e aminas, a partir de estudos de solvente por Karabastos & Taller,⁶⁵ das constantes de acoplamento $^1J(^{13}\text{C}, ^{13}\text{C})$ por Krivdin e col.,⁶⁶ de deslocamento químico por efeitos de lantanídeos por Fraser⁶⁷ e de efeitos de relaxação por Levy & Nelson.⁶⁸

Entretanto para substituintes aromáticos e heteoaromáticos, cetonas, ésteres e amidas geminais, existem poucos estudos sistemáticos em relação ao isomerismo *E* e *Z* de oximas, entre os quais se destaca o uso das constantes de acoplamento spin-spin $^2J(^{15}\text{N}, ^{13}\text{C})$ e RMN- ^{15}N por Jirman e colaboradores.⁶⁹

Comparando os resultados descritos por Jirman para a oxima 21, cujos deslocamentos químicos δ 25,33 e 30,30 correspondem a respectivamente *Z* e *E*, com os dados experimentais obtidos neste trabalho δ 25,09 e 30,04, foi possível portanto atribuir inequivocamente a configuração destes isômeros.

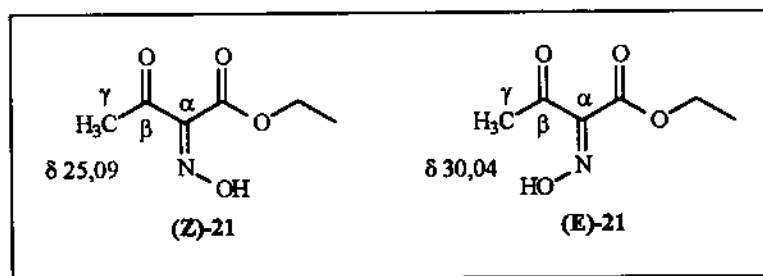


Figura 3.1: Deslocamento químico em RMN- ^{13}C de C_α para os isômeros *Z* e *E* da oxima 21

Analogamente, o efeito observado em RMN- ^{13}C de deslocamento do sinal de C_γ para campo mais alto, ou seja, menores valores de δ no caso dos isômeros *Z*, permitiu dessa forma a determinação das estruturas *Z* e *E* das α -oximas 20-24, e α -O-alkil (ou O-acil) oximas 25-31.

⁶⁵ Karabastos, G. J.; Taller, R. A. *Tetrahedron* 1968, 24, 3347.

⁶⁶ Krivdin, L. B.; Kalabin, G. A. *Tetrahedron Lett.* 1984, 25, 4817.

⁶⁷ Fraser, R. R.; Bresse, M.; *Can. J. Chem.* 1982, 61, 576.

⁶⁸ Levy, G. C.; Nelson, G. L.; *J. Am. Chem. Soc.* 1972, 94, 4897.

⁶⁹ Jirman, J.; Lycka, A.; Ludwig, M.; *Collect. Czech. Chem. Commun* 1990, 55, 136.

3.2.2. Espectroscopia de Infravermelho

As Tabelas 3.5 e 3.6 a seguir mostram as bandas de estiramento de $\nu_{C=O}$ e $\nu_{C=N}$ em infravermelho relativas às α -oximas 20-24, e α -*O*-alquil (ou *O*-acil) oximas 25-31.

Tabela 3.5: Freqüências de estiramento (cm^{-1}) das bandas de C=O e C=N em IV de oximas $R_1\text{COC(=NOH)CO}_2R_2$

Composto	R_1	R_2	$\nu_{C=O}$ (cetona)	$\nu_{C=O}$ (éster)	$\nu_{C=N}$ (oxima)
(Z)-20	Ph	Et	1672	1731	1596
(Z)-21	Me	Et	1698	1731	1629
(Z)-22	Et	Me	1691	1738	1629
(Z)-23	MeOCH ₂	Me	1705	1752	1627
(Z)-24	Me	PhCH ₂	1684	1744	1627

Tabela 3.6: Freqüências de estiramento (cm^{-1}) das bandas de C=O e C=N em IV de *O*-alquil (ou *O*-acil) oximas $R_1\text{COC(=NOR}_3\text{)CO}_2R_2$

Composto	R_1	R_2	R_3	$\nu_{C=O}$ (cetona)	$\nu_{C=O}$ (éster)	$\nu_{C=N}$ (oxima)
(Z)-25	Ph	Et	Me	1658	1745	1598
(E)-25	Ph	Et	Me	1685	1719 e 1743	1596
(Z)-26	Me	Et	Me	1692	1744	1600
(E)-26	Me	Et	Me	1710	1726 e 1750	1599
(Z)-27	Et	Me	Me	1694	1749	1601
(E)-27	Et	Me	Me	1710	1731 e 1751	1599
(Z)-28	MeOCH ₂	Me	Me	1711	1744	1601
(Z)-29	Me	PhCH ₂	Me	1699	1744	1596
(E)-29	Me	PhCH ₂	Me	1711	1725 e 1746	1600
(Z)-30	Me	Et	PhCH ₂	1693	1746	1599
(E)-30	Me	Et	PhCH ₂	1712	1725 e 1744	1597
(Z)-31	Me	Et	COMe	1711	1746	1622

A geometria *Z* em torno da ligação C=N foi sugerida para os compostos **20** a **24**, com base na absorção em IV, levando em consideração que essas moléculas possuem a conformação *s-cis* mais estável devido a uma ligação hidrogênio intramolecular,⁷⁰ conforme esquematizado na Figura 3.2.

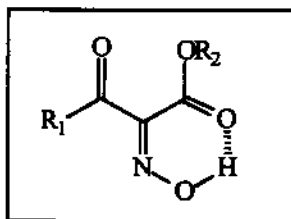


Figura 3.2: Conformação *s-cis* das α -oximas, 20-24

Através dos dados obtidos a partir dos espectros de IV foi possível observar no caso dos isômeros (*E*)-**25** a **30** um desdobramento das bandas referentes a C=O de éster, correspondente aos isômeros rotacionais *s-cis* e *s-trans*.

Sabendo-se que os efeitos estéricos que reduzem a coplanaridade do sistema conjugado reduzem igualmente o efeito da conjugação, pode-se atribuir como *s-cis* às bandas de absorção de maior frequência (número de onda) e como *s-trans*, às de menor frequência, como ilustrado na Figura 3.3.

Para os compostos (*Z*)-**25** a **31** não ocorre tal desdobramento, já que o isômero rotacional (*Z*)-*s-trans* é desfavorecido devido às interações estéricas existentes, e portanto as moléculas estariam predominantemente na conformação mais estável *s-cis*.

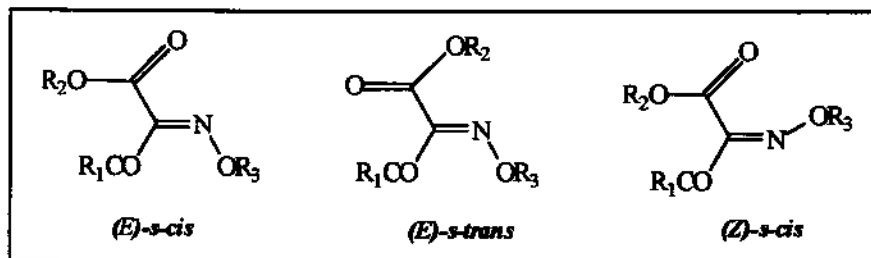


Figura 3.3: Conformações *s-cis* e *s-trans* das *O*-alquil (ou *O*-acil) oximas, 25-31.

⁷⁰ Osawa, M.; Hatta, A.; Harada, K.; Suetaka, W. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1976, 49, 1512.

3.2.3. Efeito Estereoeletrônico

Uma racionalização dos espectros de RMN e IV dos isômeros *E* e *Z* pôde ser feita levando-se em consideração o efeito estereoeletrônico⁷¹ $n \rightarrow \sigma^*$ do par de elétrons *não-ligante* do nitrogênio com a ligação σ antiperiplanar adjacente.⁷² A interação $n \rightarrow \sigma^*$ produz um caráter *antiligante* na ligação σ e concomitantemente um aumento no tamanho da ligação, reduzindo o *overlap* dos orbitais p-p entre C_α - C_β . Como consequência ocorre uma diminuição da deslocalização eletrônica no do sistema conjugado.⁷³

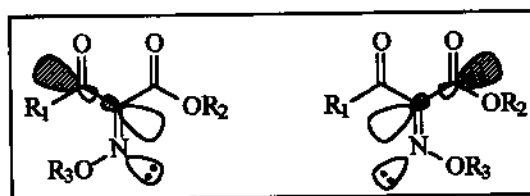


Figura 3.4: Efeito estereoeletrônico $n \rightarrow \sigma^*$ para os isômeros *E* e *Z* de oximas

Assim, as formas canônicas de ressonância teriam contribuições diferentes para cada um dos isômeros, sendo que comparativamente a estrutura (*Z*)-II teria maior importância na estabilização do isômero *Z* do que a estrutura (*E*)-II teria para isômero *E*. Analogamente (*E*)-III teria uma maior contribuição para a estabilização isômero *E* do que (*Z*)-III teria para o isômero *Z*.

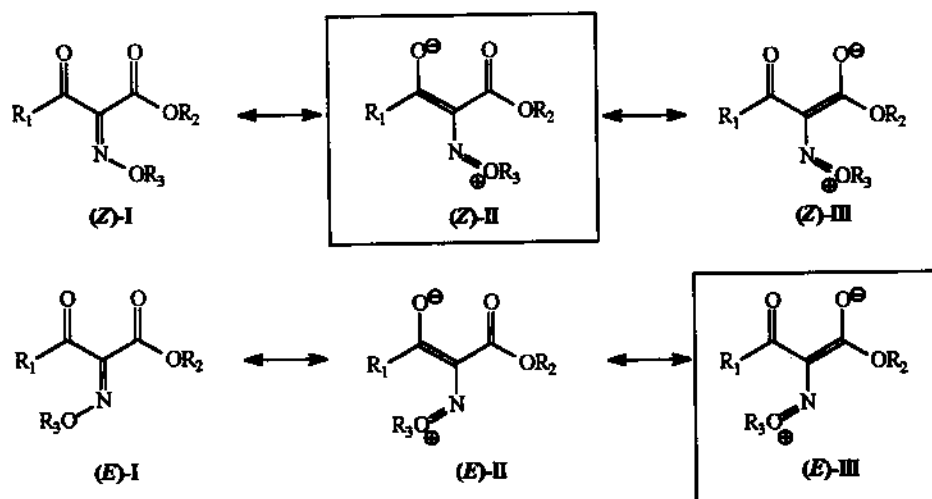


Figura 3.5: Estruturas de ressonância os isômeros *E* e *Z* de oximas

⁷¹ Deslongchamps, P.; "Stereoelctronic Effects in Organic Chemistry", Pergamon Press: NY, 1983.

⁷² Romers, C.; Altona, C.; Buys, H. R.; Havinga, E. *Top. Stereochem.* 1969, 4, 76.

⁷³ Baldwin, J. E.; Norris, R. K. *J. Org. Chem.* 1981, 46, 697.

Utilizando-se o efeito estereoeletrônico na tentativa de explicar o deslocamento químico do sinal de C_γ para campo mais alto em RMN- ^{13}C para os isômeros *Z* (Tabelas 3.3 e 3.4), pode-se atribuir a diminuição de δ ao maior caráter enólico da ligação $C=O$, cujo sistema está relativamente mais conjugado segundo a estrutura (*Z*)-II da Figura 3.5. Da mesma forma, para os isômeros *E*, devido à menor conjugação do sistema, a ligação $C=O$ teria relativamente maior caráter de carbonila, apresentando portanto δ maiores.

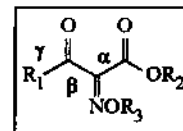
Analogamente, o desdobramento das bandas referentes a $C=O$ de éster nos espectros de IV (Tabelas 3.5 e 3.6), correspondente aos isômeros rotacionais *s-cis* e *s-trans*, pode ser atribuído à sua rotação relativamente impedida no caso dos isômeros *E*, devido a o efeito estereoeletrônico implicar em um maior caráter de dupla da ligação $C=C$ adjacente, segundo a estrutura (*E*)-III da Figura 3.5.

É interessante mencionar a existência de algumas contestações a respeito do efeito estereoeletrônico nos modelos propostos por Baldwin⁷³ utilizando cálculos teóricos semi-empíricos por Perrin & Engler.⁷⁴ Os autores colocam em dúvida o aumento ou diminuição do comprimento da ligação devido ao efeito estereoeletrônico, sugerindo que as interações estéricas são primordialmente as responsáveis pelo comportamento observado.

Entretanto pode-se observar neste trabalho que o sinal do deslocamento químico de C_γ em RMN- ^{13}C não apresenta variação significativa com o aumento dos grupos substituintes R_1 e R_3 nos compostos, conforme a Tabela 3.7.

Tabela 3.7: Deslocamento químico (δ) em RMN- ^{13}C de oximas $R_1COC(=NOR_3)CO_2R_2$

R_1	R_2	R_3	Comp.	C_γ (δ)	Comp.	C_γ (δ)
Me	Et	H	(<i>Z</i>)-21	25,09	(<i>E</i>)-21	30,04
Me	Et	Me	(<i>Z</i>)-26	24,74	(<i>E</i>)-26	29,67
Me	Et	PhCH ₂	(<i>Z</i>)-30	25,08	(<i>E</i>)-30	30,09
Me	PhCH ₂	H	(<i>Z</i>)-24	25,09	(<i>E</i>)-24	30,07
Me	PhCH ₂	Me	(<i>Z</i>)-29	24,95	(<i>E</i>)-29	29,78



⁷⁴ Perrin, C. L.; Engler, R. E. *J. Org. Chem.* 1997, 62, 687.

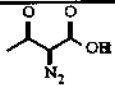
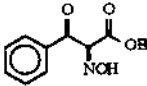
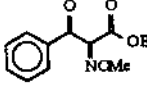
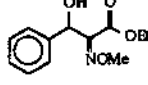
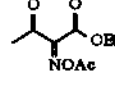
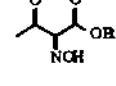
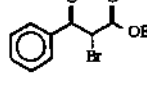
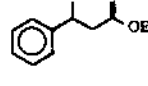
3.3. Reduções Microbiológicas

3.3.1. Testes Preliminares sobre a Biorredução dos compostos α -nitrogenados derivados de β -ceto ésteres

A redução microbiológica utilizando *Saccharomyces cerevisiae* é a etapa-chave na rota de síntese proposta para os β -hidroxi- α -amino ácidos e derivados, devido à formação estereoespecífica do centro quiral. Dessa forma, é fundamental a escolha de um substrato estável e pelo menos parcialmente solúvel em meio aquoso, e principalmente que tenha boa aceitação e baixa toxicidade para o microorganismo.

Com o objetivo de se encontrar o substrato mais eficiente na biorredução foram realizados testes com α -diazó **18**, α -oxima **20**, α -*O*-metil oxima **25**, α -*O*-acil oxima **31** e α -bromo **14**, sendo este último um possível substituto do α -azido **15**, que apresentou dificuldades na sua preparação.

Tabela 3.8: Reduções microbiológicas com α -derivados de β -ceto ésteres ^a

	Composto	Produto	Conversão ^b (%)	Rend. (%)
18		-	0	- ^c
20		-	0	- ^c
25		33 	40	9
31		21 	100	- ^d
14		32 	100	62

^a condições: *S. cerevisiae*, K10, açúcar, KCl 2%, 30°C, 48 horas; ^b conversão (%) = produto / (reagente + produto) x 100; ^c os compostos **18** e **20** foram recuperados; ^d o rendimento para o produto **21** não foi determinado.

Com base nos resultados obtidos, pôde-se observar que a α -O-metil oxima **25**, apesar do rendimento relativamente baixo, comportou-se como o substrato mais adequado para a biorredução.

O α -diazó **18** e as α -oximas **20** e **21** (essa última proveniente da desacetilação de **31**) foram recuperados sem indícios de redução, demonstrando aparentemente uma baixa afinidade do microorganismo por essas substâncias.⁷⁵

O α -bromo- β -ceto éster **14** foi reduzido com bom rendimento, entretanto sofreu também desalogenação pelo *S. cerevisiae*.⁷⁶

3.3.2. Otimização da Biorredução de α -O-alkil oximas

Foi estabelecido um estudo sobre a redução microbiológica com *Saccharomyces cerevisiae* imobilizado em montmorilonita K10, utilizando como substrato a α -O-metil oxima **25**, visando à otimização das condições de reação e à introdução de novos parâmetros semi-quantitativos.⁷⁷

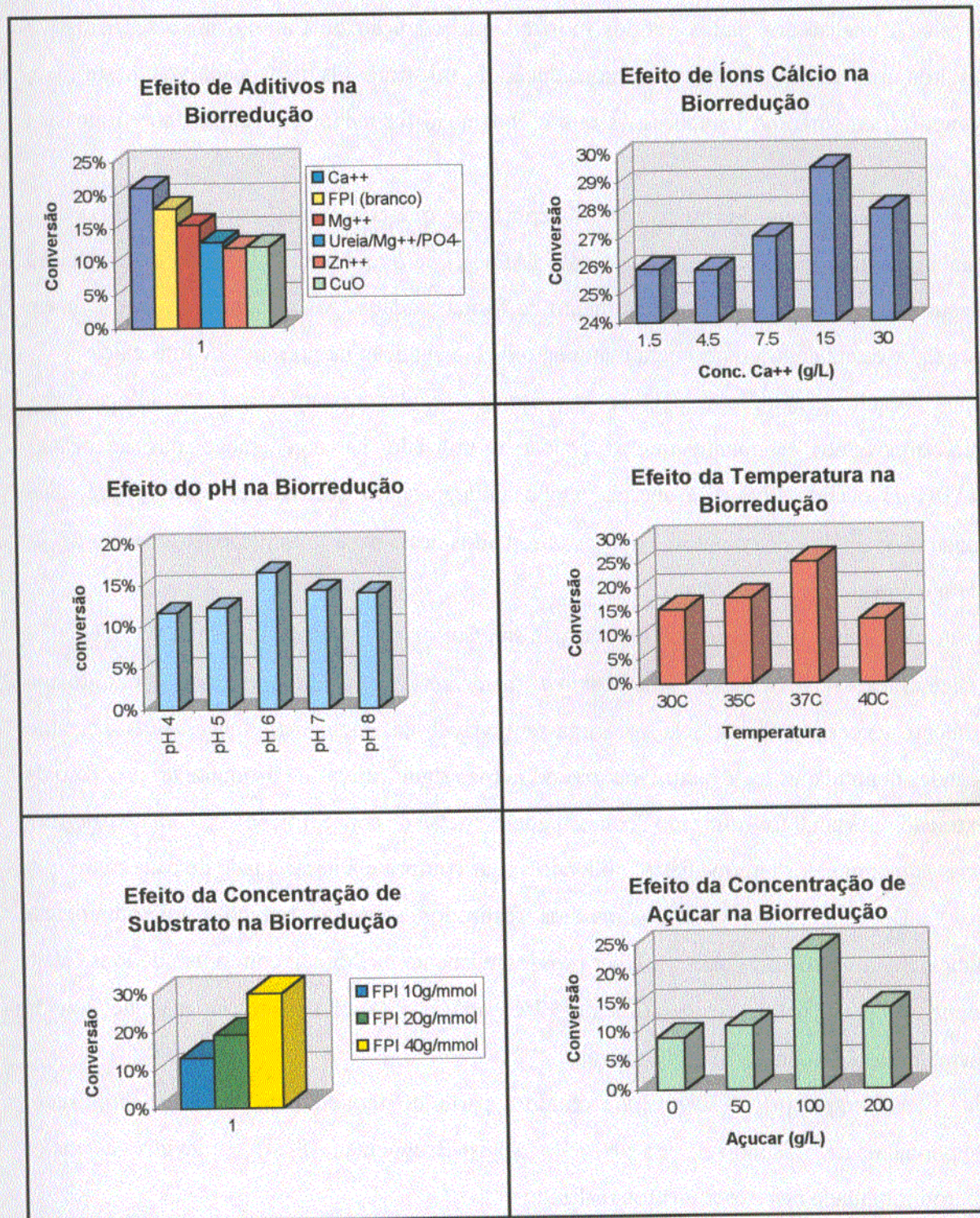
Com base no grau de conversão da α -O-metil oxima **25** no respectivo álcool, determinado através de RMN-¹H, foi estudado o comportamento da biorredução diante de aditivos, da variação nas concentrações de substrato e açúcar (sacarose) e diante de mudanças de pH e temperatura.

Os principais resultados obtidos na otimização das condições reacionais estão representados na Figura 3.6.

⁷⁵ Soukup, M.; Wipf, B.; Hochuli, E.; Leuenberger, H. G. W. *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 233.

⁷⁶ Cabon, O.; Larchevêque, M.; Buisson, D.; Azerad, R. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 7337.

⁷⁷ Corrêa Jr., I. R.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R.; 20^a. Reunião Anual da SBQ, *Resumos*, vol.2, 1997, QQ-119.

Figura 3.6: Otimização da Biorredução de *O*-alquil oximas

Sabendo-se que cátions metálicos podem influenciar no transporte bioquímico de substratos⁷⁸, investigou-se a possibilidade do uso de uma série de aditivos contendo estes metais. A análise dos dados obtidos mostrou que a adição de Ca^{++} ao meio fermentativo resultou num aumento razoável na biorredução do substrato. Os demais aditivos, neste caso, comportaram-se como inibidores, já que a conversão foi menor em relação ao ensaio sem aditivo (branco).

Recentemente, Feytmans e col.⁷⁹ reportaram que concentrações milimolares de Ca^{++} estabilizam a enzima álcool desidrogenase (ADH I) de *S. cerevisiae* evitando a dissociação de sua forma reduzida e o desdobramento da forma oxidada. Assim, é possível que também este fator esteja contribuindo para o aumento da biorredução na presença de íons cálcio.

A temperatura e o pH são importantes reguladores da atividade biológica dos microorganismos, enquanto que o açúcar é utilizado na regeneração das coenzimas NAD(P)H e como fonte de energia, ambos influenciando decisivamente na redução dos substratos, sendo que os valores ótimos observados neste caso foram respectivamente 37°C, pH 6 e concentração de 100 g/L.

O efeito da variação microorganismo/substrato indicou que quanto menor a concentração relativa da α -O-metil oxima, maior será o grau de conversão. Contudo um aumento excessivo dessa relação torna-se inviável, já que seriam necessárias portanto grandes quantidades da levedura, ocorrendo perdas significativas de produtos no processo de extração. Assim, foi utilizado como padrão para a concentração de *Saccharomyces cerevisiae* um valor intermediário, podendo variar conforme a necessidade de cada caso.

De uma forma geral, os ensaios realizados sobre as reduções microbiológicas indicaram que a metodologia pode ser progressivamente melhorada com o uso de íons cálcio (conc. 15 g/L), pH 6, temperatura de 37°C, açúcar (100g/L) e uma relação de 20g da levedura imobilizada por mmol substrato.

Foi empregado *S. cerevisiae* obtido a partir do fermento de pão belga liofilizado, comercialmente disponível, da N. V. Algist-Bruggeman S. A., devido a maior reprodutibilidade nos experimentos realizados.

⁷⁸ Siegel, H.; "Metal ions in biological systems", Marcell Dekker, Inc.: New York, 1981, vols. 12 e 13.

⁷⁹ De Bolle, X.; Vinals, C.; Fastrez, J.; Feytmans, E. *Biochem J.* 1997, 323, 409.

3.3.3. Redução Microbiológica de α -O-alkil oximas

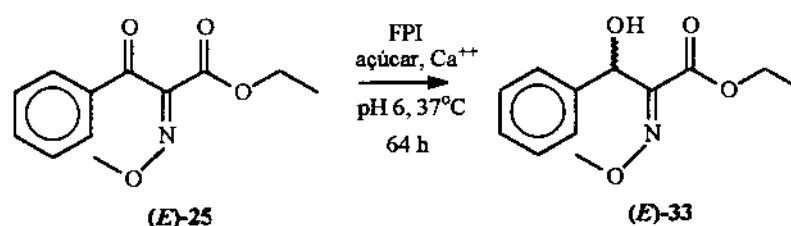
Foi realizada a redução das α -O-alkil oximas **25-30**, com fermento de pão imobilizado em montmorilonita K10 (FPI), segundo a metodologia desenvolvida preliminarmente e relatada na Seção 3.3.2. Os principais resultados obtidos estão sumarizados na Tabela 3.9 a seguir:

Tabela 3.9: Redução Microbiológica dos α -O-alkil-oximas- β -ceto ésteres **25-30** com FPI

	Compostos			Tempo (horas)	Recup. (%)	Produtos			
	R ₁	R ₂	R ₃			Rend.(%) ^a		Rend.(%)	
(E)- 25	Ph	Et	Me	64	21	(E)- 33	15 (19)	39	6
(Z)- 26	Me	Et	Me	18	0	(Z)- 34	36 (36)		
(E)- 26	Me	Et	Me	40	30	(E)- 34	29 (41)		
(Z)- 27	Et	Me	Me	40	41	(Z)- 35	10 (17)		
(E)- 27	Et	Me	Me	64	42	(E)- 35	11 (19)	40	30
(Z)- 28	MeOCH ₂	Me	Me	64	16	(Z)- 36	37 (44)		
(Z)- 29	Me	PhCH ₂	Me	24	0	(Z)- 37	4 (4)		
(Z)- 30	Me	Et	PhCH ₂	18	0	(Z)- 38	4 (4)		

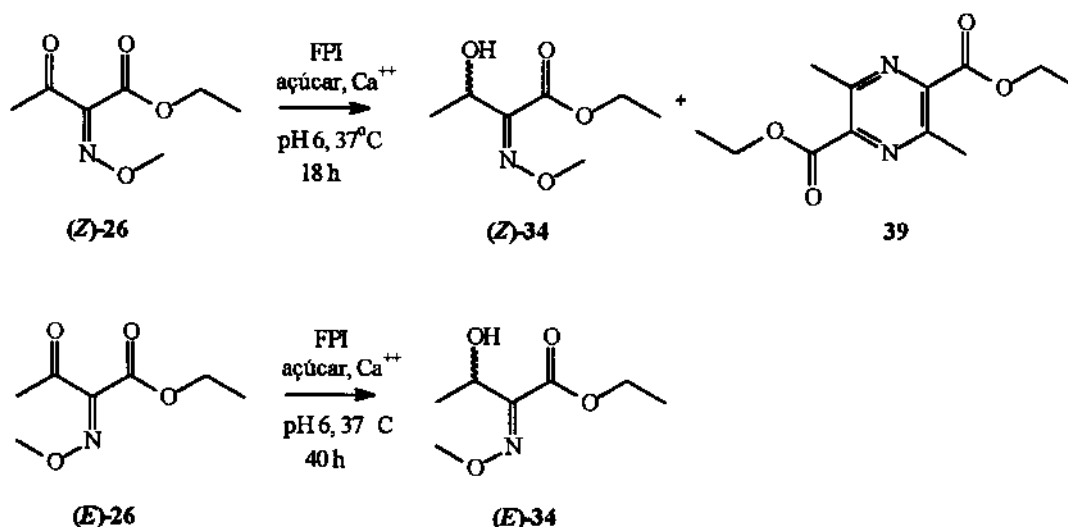
^a o valor entre parênteses significa o rendimento levando-se em consideração a recuperação do material de partida.

A redução microbiológica da (E)- α -O-metil-oxima **25** utilizando a condições otimizadas foi sensivelmente melhorada para 15% de rendimento isolado de (E)-**33** com relação aos 9% obtidos anteriormente. O grau de conversão dessa biorredução manteve-se constante em torno de 40%, sendo o material de partida recuperado em 21% após um período de 48 a 64 horas, não apresentando variações significativas mesmo com um tempo de 180 horas de reação.



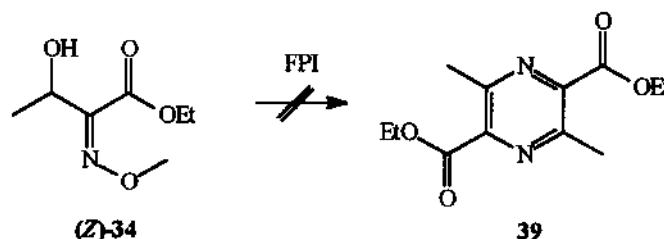
Esquema 3.6: Redução do (E)-2-(metoxilimino)-3-fenil-3-oxo-propionato de etila com FPI

A redução da (*Z*)- α -O-metil-oxima **26** produziu, após 18 horas de reação, o álcool β -hidroxi-(*Z*)- α -O-metil-oxima **34**, e surpreendentemente um produto identificado como 3,6-dimetil-pirazina-2,5-dicarboxilato de etila **39**, com rendimentos de 36% e 6%, respectivamente. A partir do isômero (*E*)- α -O-metil-oxima **26** obteve-se, no entanto, apenas o álcool (*E*)-**34**, em 29% de rendimento e recuperou-se em 30% o material de partida, após 40 horas de reação. Neste caso, o grau de conversão se manteve constante em torno de 50%, mesmo após um período de 160 horas.⁸⁰



Esquema 3.7: Redução dos (*Z*)- e (*E*)-2-(metoxilimino)-3-oxo-butanoatos de etila com FPI

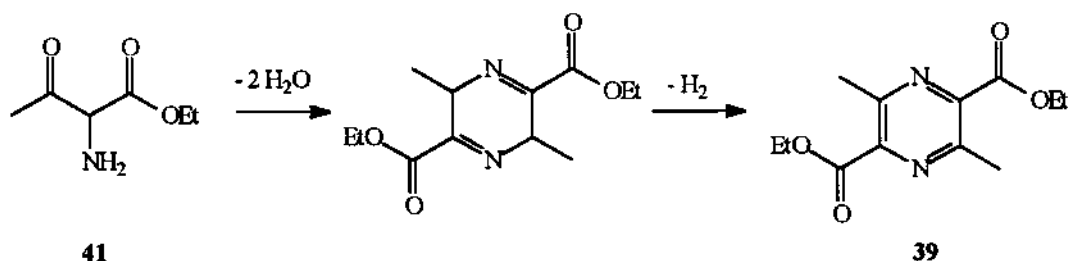
A formação inesperada da dicarboxipirazina **39**, exclusivamente no caso da redução (*Z*)-O-metil-oxima **26**, foi a princípio vinculada com a formação do álcool (*Z*)-**34**. Entretanto, quando este composto foi submetido às mesmas condições de uma biorredução por um período de 160 horas, não houve qualquer indício de formação do anel pirazínico, sendo o álcool recuperado em sua grande parte.



Esquema 3.8: Tentativa de síntese da dicarbóxi-pirazina a partir do álcool (*Z*)-**34**.

⁸⁰ Corrêa Jr., I. R.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R.; 21^a. Reunião Anual da SBQ, *Resumos*, vol.2, 1998, QO-125.

Uma outra possibilidade seria a pirazina estar sendo formada a partir da dimerização do α -amino- β -ceto éster **41**, como descrito na hidrogenação catalítica de oximas por Lida e col.⁸¹ e na reação com TiCl_3 por Zercher & Miller.⁸² O mecanismo proposto para a formação da dicarboxipirazina **39** seria a dimerização do α -amina **41** com perda de água e subsequente aromatização conforme o Esquema 3.9.



Esquema 3.9: Mecanismo de formação da 3,6-dimetil-pirazina-2,5-dicarboxilato de etila10.

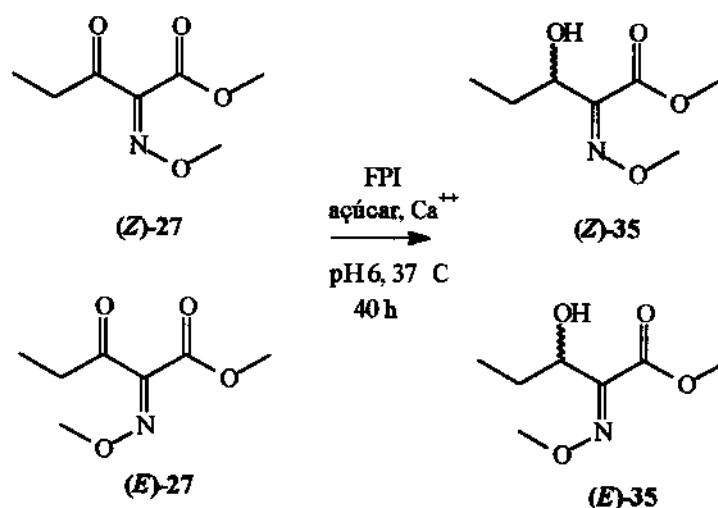
Para isso seria necessário que o microorganismo reduzisse o grupo α -O-metil-oxima a α -amino, e mais, que esta reação se processasse seletivamente com apenas o isômero *Z*. Existe na literatura um trabalho de Gibbs & Barnes⁸³ que relata a redução de oximas a aminas com fermento de pão, porém em pH ácido e com baixos rendimentos. Entretanto, ainda não foi detectada a presença de compostos α -amino-carbônicos no meio reacional.

A redução microbiológica da (*Z*)- α -O-metil-oxima **27** deu origem ao álcool β -hidroxi-(*Z*)- α -O-metil-oxima **35**, em 10% de rendimento em 40 horas de reação, sendo o material de partida recuperado em 41%, enquanto que, a partir da redução da (*E*)-**27**, se obteve o β -hidroxi-(*E*)- α -O-metil-oxima **35**, em 11% de rendimento, e se recuperou em 42% o reagente após 64 horas de reação.

⁸¹ Lida, H.; Hayashida, K.; Yamada, M.; Takahashi, K.; Tamada, K. *Synth. Comm.* **1973**, *3*, 225.

⁸² Zercher, C. K.; Miller, M. J. *Heterocycles* **1988**, *27*, 1123.

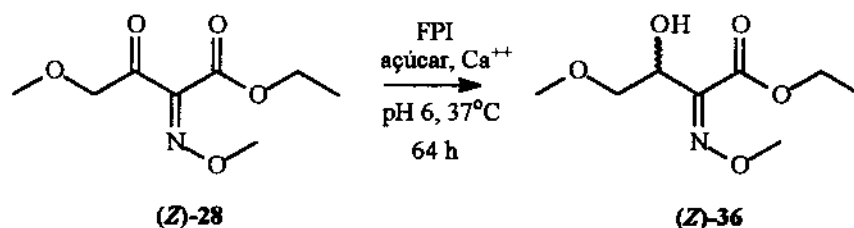
⁸³ Gibbs, D. E.; Barnes, D. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5555.



Esquema 3.10: Redução dos (Z)- e (E)-2-(metoxilimino)-3-oxo-pentanoatos de metila com FPI ;

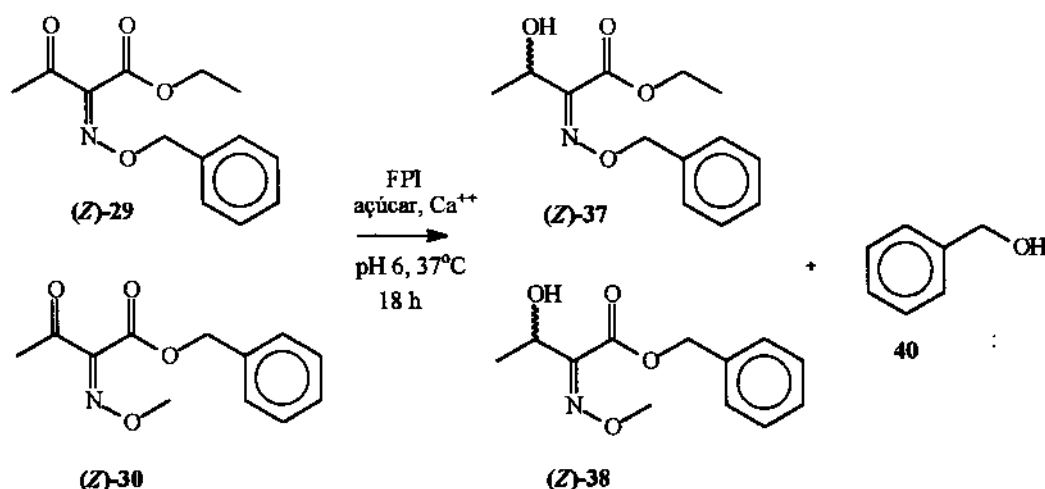
Neste caso, pelo menos a princípio, não houve divergência entre a redução dos isômeros *E* e *Z*, sendo que, para ambos, o grau de conversão manteve-se em torno de 20%. O que se pôde notar foi a menor afinidade do microorganismo por estes substratos, quando comparados com a redução de (Z)- e (E)-26. Também não foi detectada a formação do composto análogo dicarbóxi-pirazina.

A redução da (Z)- α -O-metil-oxima **28** alcançou melhores resultados possivelmente devido à melhor solubilidade deste composto no meio reacional aquoso, produzindo ao álcool β -hidroxi-(Z)- α -O-metil-oxima **36**, em 37% de rendimento em 64 horas de reação, e recuperando o material de partida em 16%.



Esquema 3.11: Redução dos (Z)-2-(metoxilimino)-4-metoxi-3-oxo-butanoato de metila com FPI

Ao contrário do caso anterior, a biorredução das (*Z*)- α -*O*-alquil-oximas **29** e **30**, em que o grupo substituinte é o benzila em R₂ e R₃, respectivamente, apresentou baixíssimos rendimentos dos β -hidroxi-(*Z*)- α -*O*-alquil-oximas **37** e **38**, sendo isolado como produto principal da reação o álcool benzílico **40**, em ambos os casos.



Esquema 3.12: Redução microbiológica das (*Z*)- α -*O*-alquil-oximas **29** e **30** com FPI

O balanço de massa destas reações indica uma ampla formação do álcool benzílico que possivelmente seja proveniente da degradação da (*Z*)-*O*-alquil-oximas **29** e **30** e/ou dos álcoois β -hidroxi-(*Z*)- α -*O*-alquil-oximas **37** e **38** através de uma via metabólica do próprio microorganismo, que utilizaria estes compostos como fonte de carbono, já que os mesmos podem ser precursores de amino ácidos naturais.

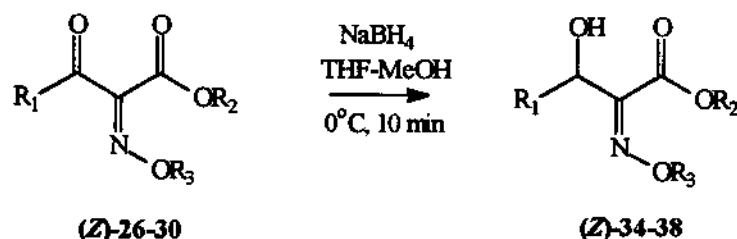
De um modo geral, estes resultados foram bastante interessantes, pois utilizando-se de oximas benziladas como substratos foi possível notar que, além do processo de redução desejado, podem ocorrer reações paralelas como esta suposta degradação, detectada através da formação do álcool benzílico. Essas reações competitivas, somadas à adsorção dos compostos nas células do microorganismo e ao trabalhoso processo de extração, podem explicar os rendimentos relativamente baixos obtidos nas biorreduções.

3.4. Preparação das β -hidroxi- α -O-alkil oximas Racêmicas

Para a determinação da pureza enantiomérica dos álcoois obtidos a partir das reduções microbiológicas, foi necessária a preparação prévia dos respectivos compostos racêmicos, como padrão de comparação.

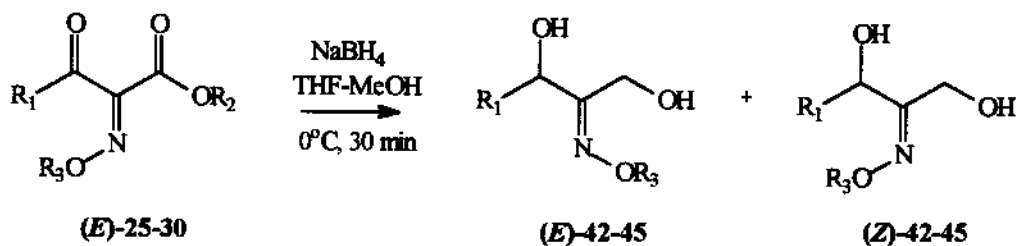
3.4.1. Síntese ($\pm$)- α -O-alkil-oximas- β -hidroxi ésteres

Os compostos ($\pm$)-(*Z*)- α -O-alkil-oximas- β -hidroxi ésteres **34-38** foram sintetizados a partir das respectivas (*Z*)- α -O-alkil-oximas **26-30**, via redução química com NaBH₄ em tetraidrofurano-metanol (10:1) a 0°C, conforme os resultados descritos na Tabela 3.10.



Esquema 3.13: Síntese ($\pm$)-(*Z*)- α -O-alkil-oximas- β -hidroxi ésteres **34-38**

Utilizando as mesmas condições de redução com NaBH₄ para os (*E*)- α -O-alkil-oximas- β -ceto ésteres **25-30**, foram obtidos surpreendentemente os compostos ($\pm$)-O-alkil-oxima-1,3-dióis **42-45**, identificados como uma mistura aproximadamente 1:1 dos isômeros *E* e *Z*.



Esquema 3.14: Síntese de ($\pm$)-O-alkil-oxima-1,3-dióis **42-45**

Tabela 3.10: Redução de (Z)- e (E)- α -O-alkil-oximas- β -ceto ésteres 25-30 com NaBH₄ a 0°C.

Composto	R ₁	R ₂	R ₃	Produto	Rend. (%)
(E)-25	Ph	Et	Me	(E)/(Z)-42	80
(Z)-26	Me	Et	Me	(Z)-34	79
(E)-26	Me	Et	Me	(E)/(Z)-43	71
(Z)-27	Et	Me	Me	(Z)-35	72
(E)-27	Et	Me	Me	(E)/(Z)-44	77
(Z)-28	MeOCH ₂	Me	Me	(Z)-36	78
(Z)-29	Me	PhCH ₂	Me	(Z)-37	78
(E)-29	Me	PhCH ₂	Me	(E)/(Z)-43	74
(Z)-30	Me	Et	PhCH ₂	(Z)-38	85
(E)-30	Me	Et	PhCH ₂	(E)/(Z)-45	83

Este resultado inesperado da redução de um éster a álcool por NaBH₄, surpreendeu não só pelo fato de essa reação ocorrer em condições brandas,⁸⁴ como também pelo comportamento distinto dos diastereoisômeros frente ao hidreto e ainda pela formação de uma mistura de produtos *E* e *Z*.⁸⁵

De modo a sintetizar os ($\pm$)-(*E*)- α -O-alkil-oximas- β -hidroxi ésteres 33-38, foram realizadas duas tentativas. Na primeira, utilizou-se um agente redutor mais fraco, o NaBH₃CN em metanol a pH 3 e temperatura ambiente, para a (*E*)- α -O-alkil-oxima 26 segundo método de Borch e col..⁸⁶ Os resultados, entretanto não, foram satisfatórios, pois recuperou-se em grande parte o reagente, sendo que apenas cerca de 20% foi reduzido ao álcool (*E*)-34 desejado e já ocorria a presença de traços do diol 43.

Na segunda tentativa, optou-se por reduzir drasticamente a temperatura na redução com NaBH₄ em THF-metanol. Desta vez os resultados foram positivos, sendo as ($\pm$)- β -hidroxi-(*E*)- α -O-alkil-oximas 33-38 obtidas com rendimentos de 71-85%, conforme sumarizado na Tabela 3.11.

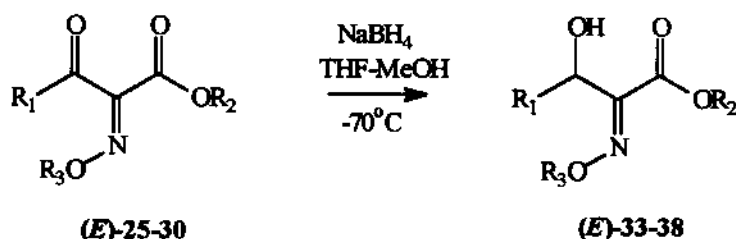
⁸⁴ Brown, M. S.; Rapoport, H. J. *Org. Chem.* 1963, 28, 3261.

⁸⁵ Corrêa Jr.; I. R.; Moran, P. J. S, 8th Brazilian Meeting on Organic Synthesis (8th BMOS), *Abstracts*, 1998, PS-159, 206.

⁸⁶ Borch, R. F.; Bernstein, M. D.; Durst, H. D. *J. Am. Chem. Soc.* 1971, 93, 2897.

Tabela 3.11: Redução de (*E*)- α -*O*-alquil-oximas- β -ceto ésteres 25-30 com NaBH₄ a -70°C.

Composto	R ₁	R ₂	R ₃	Tempo (h)	Produto	Rend. (%)
(<i>E</i>)-25	Ph	Et	Me	12	(<i>E</i>)-33	85
(<i>E</i>)-26	Me	Et	Me	3	(<i>E</i>)-34	71
(<i>E</i>)-27	Et	Me	Me	4	(<i>E</i>)-35	71
(<i>E</i>)-29	Me	PhCH ₂	Me	3	(<i>E</i>)-37	81
(<i>E</i>)-30	Me	Et	PhCH ₂	6	(<i>E</i>)-38	84

Esquema 3.15: Síntese ($\pm$)-(*E*)- α -*O*-alquil-oximas- β -hidroxi ésteres 33-38

Uma possível explicação para esta diferença de reatividade seria o impedimento estérico do grupo alcóxi das *O*-alquil-oximas *syn* ao grupo éster nos isômeros *Z*, entretanto não foi observada influência significativa nos resultados com a variação dos grupos R.

Outro fator mais interessante que poderia estar influenciando a diastereosseletividade da redução seria o efeito estereoeletrônico $n \rightarrow \sigma^*$ do par de elétrons *não ligante* do nitrogênio com a ligação σ antiperiplanar adjacente, conforme descrito na Seção 3.2.3. Segundo este modelo, a deslocalização eletrônica oxima-cetona seria mais eficiente no caso dos isômeros *Z*, o que pode ser confirmado pela absorção em menor frequência (número de onda) da carbonila em infravermelho (Tabela 3.6).

Analogamente, a deslocalização oxima-éster seria mais favorável para os isômeros *E*, favorecendo a interação do oxigênio carboxílico de maior carácter básico com o boro, e facilitando o ataque do hidreto à carboxila, conforme estrutura (I) na Figura 3.7.

Há também o efeito eletrônico que pode estar operando no caso de isômeros *E*, cujo par de elétrons *não ligante* do nitrogênio está *syn* à carboxila, que poderia interagir com o boro, favorecendo a transferência anquimérica do hidreto (II).

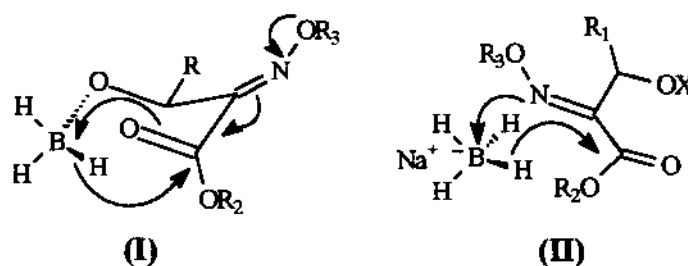


Figura 3.7: Proposta de transferência de hidreto na redução do grupo éster de (*E*)-alquil oximas

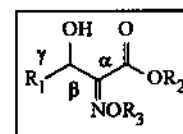
Com relação à obtenção de uma mistura 1:1 dos isômeros (*E*) e (*Z*)-2-alquil-oxima-1,3-diol, poder-se-ia imaginar a passagem da reação por um estado de transição, em que a ligação carbono-nitrogênio teria um carácter de ligação simples, ou ainda devido a uma isomerização no meio reacional ou durante o isolamento dos produtos. De qualquer forma, ambas as explicações são ainda bastante especulativas.

3.4.2. Estereoquímica *E/Z* dos α -*O*-alquil-oximas- β -hidroxi ésteres e *O*-alquil-oximas 1,3-dióis.

A configuração diastereoisomérica *E/Z* dos α -*O*-alquil-oximas- β -hidroxi ésteres **33-38** foi proposta por meio de um estudo sistemático utilizando espectroscopia de RMN- ^{13}C , conforme descrito na Tabela 3.12:

Tabela 3.12: Deslocamento químico (δ) em RMN- ^{13}C de oximas $\text{R}_1\text{CH}(\text{OH})\text{C}(=\text{NOR}_3)\text{CO}_2\text{R}_2$

R_1	R_2	R_3	Comp.	C_β (δ)	Comp.	C_β (δ)
Ph	Et	Me			(<i>E</i>)-33	67,26
Me	Et	Me	(<i>Z</i>)-34	66,93	(<i>E</i>)-34	63,52
Et	Me	Me	(<i>Z</i>)-35	71,52	(<i>E</i>)-35	68,60
MeOCH_2	Me	Me	(<i>Z</i>)-36	69,31		
Me	PhCH_2	Me	(<i>Z</i>)-37	67,02	(<i>E</i>)-37	63,82
Me	Et	PhCH_2	(<i>Z</i>)-38	66,74	(<i>E</i>)-38	63,67



A identificação dos álcoois 33-38 quanto à sua geometria foi efetuada utilizando-se de efeitos de compressão estérica em RMN- ^{13}C análogos aos descritos no trabalho de Olivato e col.⁸⁷ Quando grupo o alcóxi da oxima está em posição *syn* ao grupo CHOH ocorre, no caso dos isômeros *E*, um efeito de blindagem deslocando o sinal do C_β para campo mais alto em relação ao isômero *Z*, onde os grupos estão em posições relativas *anti*.

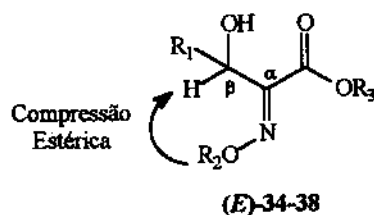


Figura 3.8: Efeito de compressão estérica em (*E*)- α -*O*-alquil-oximas- β -hidroxi ésteres 34-38

Da mesma forma, a identificação dos 2-(*O*-alquil-oximas)-1,3-dióis 42-45 foi feita com base nos efeitos de compressão estérica em RMN- ^{13}C , neste caso a partir de uma mistura 1:1 dos diastereoisômeros.

Tabela 3.13: Deslocamento químico (δ) em RMN- ^{13}C de oximas $\text{R}_1\text{CH}(\text{OH})\text{C}(=\text{NOR}_2)\text{CH}_2\text{OH}$

R_1	R_2	Comp.	C_1 (δ)	C_3 (δ)	Comp.	C_1 (δ)	C_3 (δ)
Ph	Me	(<i>Z</i>)-42	60,77	69,35	(<i>E</i>)-42	57,21	73,52
Me	Me	(<i>Z</i>)-43	60,68	64,47	(<i>E</i>)-43	57,22	67,71
Et	Me	(<i>Z</i>)-44	61,22	69,81	(<i>E</i>)-44	57,37	73,10
Me	PhCH_2	(<i>Z</i>)-45	60,91	64,84	(<i>E</i>)-45	57,61	67,84

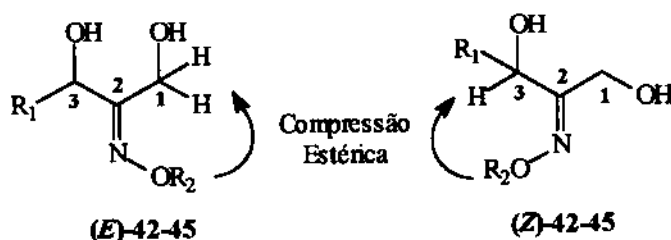


Figura 3.9: Efeito de compressão estérica em 2-(*O*-alquil-oximas)-1,3-dióis 41-45

⁸⁷ Olivato, P. R.; Ribeiro, D. S.; Rittner, R.; Hase, Y.; del Prata, D.; Bombieri, G; *Spectrochim. Acta*; Part A 1995, 51, 1497.

Para os dióis **42-45**, cujos isômeros de configuração *E* possuem o grupo alcoxi em posição *syn* ao grupo CH₂OH e *anti* em relação ao CHOH, ocorre um efeito de blindagem deslocando-se o sinal de C₁ para campo mais alto, e também de desblindagem de C₃ deslocando-o para campo baixo. Com os isômeros *Z*, cujas posições relativas dos grupos são inversas ocorre exatamente o efeito oposto, sendo o sinal de C₁ deslocado para campo baixo e de C₂ para campo mais alto.

3.5. Determinação da Pureza Enantiomérica das β -hidroxi- α -O-alkil oximas

Os excessos enantioméricos (*e.e.*) dos álcoois **33-38** obtidos via redução microbiológica foram determinados através de Cromatografia Gasosa com fase estacionária quiral de (-)- β -ciclo-dextrina. Os resultados obtidos estão sumarizados na Tabela 3.14 abaixo:

Tabela 3.14: Determinação dos Excessos Enantioméricos dos α -O-alkil-oximas- β -hidroxi ésteres

Composto	R ₁	R ₂	R ₃	e. e. (%)
(<i>E</i>)-33	Ph	Et	Me	*
(<i>Z</i>)-34	Me	Et	Me	98
(<i>E</i>)-34	Me	Et	Me	98
(<i>Z</i>)-35	Et	Me	Me	69
(<i>E</i>)-35	Et	Me	Me	72
(<i>Z</i>)-36	MeOCH ₂	Me	Me	79
(<i>Z</i>)-37	Me	PhCH ₂	Me	59
(<i>Z</i>)-38	Me	Et	PhCH ₂	59

* baixa resolução dos enantiômeros em CG quiral nas condições empregadas

Os resultados indicaram que os álcoois (*Z*)- e (*E*)-3-hidroxi-2-(metoxilimino)-butanoatos de etila **34** foram obtidos praticamente nas suas formas enantiomericamente puras (*e.e.* 98%). No caso dos isômeros (*Z*)- e (*E*)-3-hidroxi-2-(metoxilimino)-pentanoatos de metila **35**, a enantiosseletividade foi aproximadamente 85:15, sendo ligeiramente maior para o álcool-(*E*), onde o grupo O-metoxi está posicionado em direção ao sítio ativo da molécula. (*e.e.* 69 e 72%, respectivamente).

Desse modo, foi possível notar que a capacidade de estereodiferenciação do substrato pelo microorganismo independe da configuração *E/Z*, sendo influenciada nos excessos enantioméricos pelo tamanho dos grupos alquílicos R_1 da cadeia lateral.

Isto pôde ser confirmado, para o (*Z*)-3-hidroxi-2-(metoxilimino)-4-metoxi-butanoato de metila **36**, onde o oxigênio do grupo 4-metoxi em R_1 funcionou como um “espaçador” afastando a metila do sítio ativo da molécula, e portanto aumentando seletividade da redução para aproximadamente 90:10 (*e.e.* 79%) com relação aos 85:15 do álcool (*Z*)-**35**.

No caso dos compostos (*Z*)-**37** e (*Z*)-**38** a enantiosseletividade foi regular, 80:20 (*e.e.* 59%), o que pode talvez ser atribuído ao excessivo volume espacial destas moléculas devido à presença do grupo benzila, dificultando o encaixe perfeito com as enzimas do microorganismo.

A configuração *R/S* do centro assimétrico não foi ainda determinada devido à inexistência de um padrão primário de comparação. Entretanto, foi possível prever a configuração com base nas Regras de Prelog. Estas regras que, apesar de empíricas, em geral funcionam satisfatoriamente, são baseadas na distinção das faces enantiotópicas de compostos pró-quirais pelas enzimas óxido-redutases presentes no microorganismo.

No caso de leveduras, como o *S. cerevisiae*, as enzimas responsáveis pela redução são álcool desidrogenases que atuam na presença de coenzimas NADH e catalisam a transferência de hidreto pela *face re* da carbonila. Assim, foi possível atribuir às β -hidroxi- α -*O*-metil-oximas **33-38**, mesmo que empiricamente, a configuração *S*.

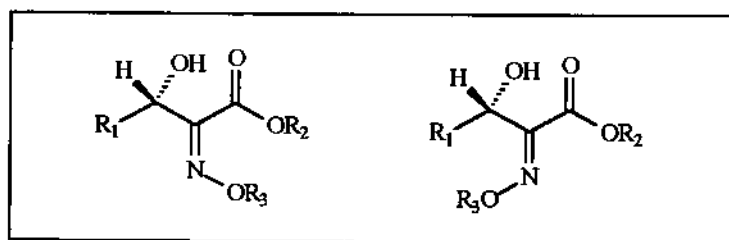


Figura 3.10: Configuração segundo Prelog das β -hidroxi- α -*O*-metil-oximas **33-38**

3.6. Preparação dos β -hidroxi- α -amino ácidos e α -amino álcoois

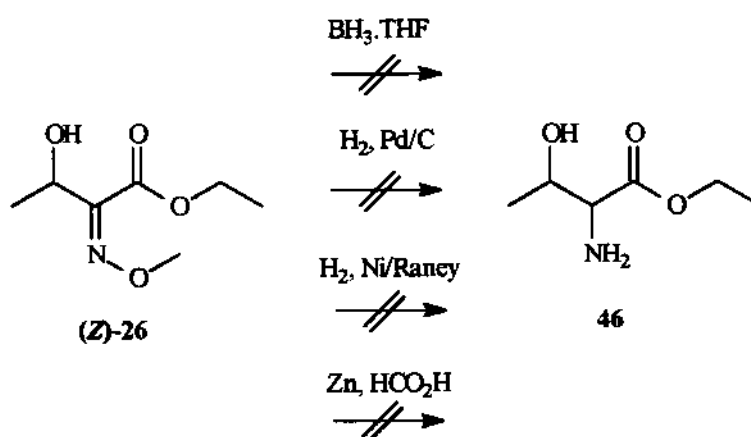
Com o intuito de sintetizar inicialmente os β -hidroxi- α -amino ácidos, foram realizadas algumas tentativas de redução seletiva do grupo *O*-alquil-oxima, visando a manter a função éster inalterada, já que essa posteriormente seria hidrolisada.

A primeira metodologia empregada para α -*O*-metil-oxima (*Z*)-26 foi a redução com borana ($\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$) em tetraidrofurano sob atmosfera inerte de argônio por 24 horas à temperatura ambiente e também sob refluxo,⁸⁸ não alcançando entretanto bons resultados, sendo o material de partida recuperado em ambas as reações.

Foram também feitas tentativas de hidrogenação catalítica em metanol utilizando paládio-carvão ativo (Pd-C)⁸⁹ à temperatura ambiente por 24 horas sob 3, 5 e até 10 atmosferas de pressão de H_2 , porém sem resultados significativos.

Da mesma forma, a hidrogenação catalisada por Ni-Raney⁹⁰ em metanol à temperatura ambiente por 24 horas sob 5 atm de H_2 não surtiu o efeito desejado, e, como nos demais casos, o reagente foi recuperado em quase sua totalidade.

A tentativa de redução da *O*-alquil-oxima com zinco e uma solução de ácido fórmico aquoso 50% à temperatura ambiente⁹¹ também não produziu resultados satisfatórios, sendo o material de partida recuperado inalterado.



Esquema 3.16: Tentativas de preparação do 2-amino-3-hidroxi-butanoato de etila

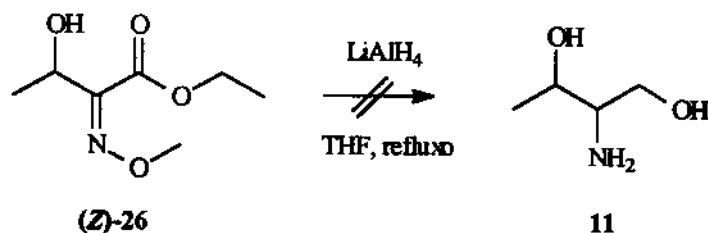
⁸⁸ Feuer, H.; Braunstein, D. M.; *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 1817.

⁸⁹ Harada, K.; Shiono, S.; *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1984**, *57*, 1040.

⁹⁰ Monzigo, R. *Org. Syntheses, Coll. Vol. 3*, **1971**, 181.

⁹¹ Scolastico, C.; Conca, E.; Prati, L.; Guanti, G.; Banfi, L.; Berti, A.; Farina, P.; Valcavi, U. *Synthesis* **1985**, 850.

Com o objetivo de sintetizar os β -hidroxi- α -amino álcoois, foi realizada uma tentativa de redução dos grupos éster e *O*-alquil-oxima utilizando hidreto de lítio e alumínio, LiAlH_4 , em THF à temperatura ambiente, porém nessas condições o material de partida foi recuperado sem resultados significativos. Quando essa reação foi submetida a refluxo por 24 horas, obteve-se como produto uma mistura complexa de difícil caracterização.



Esquema 3.17: Tentativa de preparação do 2-amino-1,3-butanodiol

Devido à escassez de tempo, não foi possível aprofundar os estudos e aprimorar as metodologias de síntese de β -hidroxi- α -amino ácidos e α -amino álcoois. Reações de hidrogenação sob Pd-C na presença de ácidos minerais em concentrações catalíticas⁹² e de redução com BH_3 ou NaBH_4 catalisada por ácidos de Lewis,^{93,94} poderiam ser alternativas viáveis na preparação destes compostos de interesse.

⁹² Davis, F. D.; Haque, M. S.; Przecławski, R. M. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2021.

⁹³ a) Itsuno, S.; Sakurai, Y.; Shimizu, K.; Ito, K. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1989**, 1548; b) Hoffman, C.; Tanke, R. S.; Miller, M. J. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3750.

⁹⁴ Masui, M.; Shioiri, T. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5195.

4. Conclusões

Os compostos α -nitrogenados $R_1COC(X)COOR_2$ (X: $-N_3$, $=N_2$, $=NOH$, $=NOR_3$) foram sintetizados conforme metodologias descritas na literatura, obtendo-se bons resultados, à exceção do derivado α -azido, que apresentou dificuldades de isolamento e purificação através do método utilizado na sua preparação.

Dentre os compostos α -nitrogenados submetidos a redução microbiológica com *Saccharomyces cerevisiae* imobilizado em montmorilonita K10, as *O*-alquil oximas, mesmo apesar do baixo rendimento, comportaram-se como os melhores substratos frente ao microorganismo.

As *O*-alquil oximas foram sintetizadas através da nitrosação dos respectivos β -ceto ésteres (rends. 51-92%) e subsequente *O*-alquilação (rends. 86-97%), sendo obtidas preferencialmente na configuração diastereoisomérica *Z*, segundo espectroscopia de infravermelho e RMN- ^{13}C .

A biorredução das *O*-alquil oximas foi estudada e otimizada empregando-se *S. cerevisiae*, sendo determinados alguns parâmetros semi-quantitativos importantes a respeito das condições de reação, tais como a presença de 15 g/L de $CaCl_2 \cdot H_2O$, pH 6, temperatura 37°C, 100 g/L de açúcar e 20 g/L da levedura imobilizada por mmol de substrato.

A partir da metodologia otimizada, foi realizada a redução microbiológica das (*E*)- e (*Z*)-*O*-alquil oximas, obtendo-se os respectivos álcoois enantiomericamente enriquecidos com rendimentos moderados 10-37% e com excessos enantioméricos apreciáveis 69-98% (excetuando-se casos de oximas benziladas, rends. <5%; ee 59%), e recuperando-se o material de partida na maioria dos casos (16-42%).

A estereodiferenciação das *O*-alquil oximas pelo microorganismo praticamente independe da configuração diastereoisomérica *E/Z*, sendo influenciada tanto nos rendimentos quanto nos excessos enantioméricos pelo tamanho dos grupos R_1 da cadeia lateral.

Por outro lado, o comportamento destes isômeros mostrou-se bastante distinto frente a NaBH_4 , sendo possível a redução diastereosseletiva dos compostos na forma *E* para a 1,3-diol-2-*O*-alquil oximas (rends. 71-83%), controlando-se apenas a temperatura da reação.

A formação de álcool benzílico na redução de oximas benziladas, obtendo-se apenas traços dos álcoois desejados, alertou para o fato de que a degradação de substratos e produtos pelo microorganismo, aliada a adsorção dos compostos nas suas células e no suporte e também ao trabalhoso processo de extração, pode ser um dos motivos responsáveis pela diminuição no rendimento das biorreações.

As tentativas iniciais de redução seletiva do grupo *O*-alquil-oxima, visando à síntese dos β -hidroxi- α -amino ácidos, utilizando hidrogenação catalítica com Pd-C e Ni-Raney e reações com borana e zinco em meio ácido não produziram resultados satisfatórios. Da mesma forma, a de redução total da *O*-alquil-oxima com LiAlH_4 , para síntese dos β -hidroxi- α -amino álcoois não forneceu o produto desejado, sendo necessário ainda um aprimoramento destas metodologias.

Devido às dificuldades surgidas na síntese dos β -hidroxi- α -amino ácidos e α -amino álcoois, que seriam os prováveis padrões para comparação, não foi determinada a configuração absoluta do centro assimétrico formado a partir das reduções microbiológicas. Dessa forma, a configuração foi sugerida empiricamente como *S*, através da Regra de Prelog.

5. Parte Experimental

5.1. Considerações Gerais

5.1.1. Instrumentos Utilizados

- Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Bruker modelo AW-80, Bruker modelo AC-300P e Varian-Gemini-300 para obtenção dos espectros de RMN- ^1H e RMN- ^{13}C , utilizando como solventes tetracloreto de carbono e clorofórmio deuterado. Os deslocamentos químicos foram expressos em δ ; indicando-se multiplicidade (s, singleto; d, dubleto; t, tripleto; q, quarteto; m, multiplete; l, largo), constante de acoplamento (J) em Hertz e número de hidrogênios.

- Espectroscopia de Infravermelho

Perkin Elmer modelos 1430 e 1600 séries FTIR e Bomem MB séries na obtenção dos espectros de IV, utilizando-se para filme cela de NaCl ou pastilha de KBr.

- Cromatografia Gasosa / Espectometria de Massas

Cromatógrafo HP 5890 utilizando-se o sistema de detecção por Espectometria de Massas HP 5988 A e CG/MS Shimatzu Class 5000.

- Análise Elementar

Analizador Elementar Perkin Elmer 2400 CHN.

- Ponto de Fusão

Aparelho de ponto de fusão Microquímica MQAFP-301.

5.1.2. Reagentes

- os reagentes utilizados foram obtidos de fornecedores e tiveram purificação prévia quando necessário;
- os solventes comerciais utilizados foram previamente tratados e destilados;
- utilizou-se fermento de pão liofilizado belga da N. V. Algist-Bruggeman S. A. (marca fantasia Emulzint).

5.2. Preparação dos compostos α -nitrogenados derivados de β -ceto ésteres

5.2.1. Síntese do α -azido- β -ceto éster

5.2.1.1. *Preparação do 2-bromo-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, 14*

A uma solução de 5,80 g (30,2 mmol) de benzoilacetato de etila 1 em 20 mL de CCl_4 , com agitação, a uma temperatura de -5°C , foram adicionados 1,9 mL (36,2 mmol) de bromo dissolvidos em 9 mL de CCl_4 , gota a gota, durante 15 minutos, com auxílio de um funil de adição com equalizador de pressão. A reação foi mantida por 1 hora a 0°C e por uma noite à temperatura ambiente. Durante a reação ocorreu evolução de HBr gasoso. O progresso desta reação foi acompanhado através de CCD. A purificação do produto foi efetuada através de destilação a pressão reduzida ($132\text{-}142^\circ\text{C}/2\text{ mmHg}$), obtendo-se 5,98 g (22,1 mmol) de um óleo amarelado correspondente ao composto bromado 14 com um rendimento de 73%.

5.2.1.2. *Preparação do 2-azido-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, 15*

- Tentativa 1:

A uma solução de 5,65 g (20,8 mmol) de α -bromo-benzoilacetato de etila 14 em 15 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), sob agitação magnética a uma temperatura de $3\text{-}5^\circ\text{C}$, adicionou-se 1,65 g (25,4 mmol) de azoteto de sódio. A reação foi mantida neste intervalo de temperatura por 24 h e acompanhada por CCD. A mistura foi então vertida em 150 mL de água e extraída com acetato de etila ($3\times 30\text{ mL}$), e lavada com água ($3\times 30\text{ mL}$). Os extratos foram combinados e secos em sulfato de sódio anidro e o solvente foi removido a vácuo. O produto foi purificado através de cromatografia em coluna de sílica gel eluindo-se com hexano/acetato de etila (8:2), obtendo-se 0,318 g de um óleo amarelo contendo uma mistura de produtos, segundo avaliação de RMN- ^1H e CCD.

- Tentativa 2:

A uma solução de 1,00 g (3,70 mmol) de α -bromo-benzoilacetato de etila **14** em 3 mL de acetona, sob agitação magnética a uma temperatura entre 3-5°C, adicionou-se 0,30 g (4,60 mmol) de azoteto de sódio. A reação foi mantida neste intervalo de temperatura por uma hora e à temperatura ambiente por uma noite. A reação foi acompanhada por CCD. A mistura reacional foi filtrada e o solvente removido a vácuo, obtendo-se 0,67 g de um óleo amarelado. Foi feita purificação por cromatografia em coluna de sílica gel eluindo-se com hexano/acetato de etila (8:2). A análise do produto isolado por CCD e IV indicou a presença novamente de uma mistura complexa.

- Tentativa 3:

Idem ao procedimento empregado na tentativa 2, mantendo a temperatura de 0°C até a finalização da reação, após 7 horas. Observou-se desprendimento de gás (possivelmente N₂) do produto bruto quando submetido a pressão reduzida (1 mmHg), indicando sua provável decomposição, acompanhada por IV. Foi efetuada coluna cromatográfica do produto em sílica gel eluindo-se com hexano/acetato de etila (9:1). Isolou-se um óleo amarelo que através de análise de RMN-¹H, espectroscopia de massa e CCD indicou a presença de uma mistura complexa.

- Tentativa 4:

Foi adicionado 0,154 g (0,57 mmol) α -bromo-benzoilacetato de etila **14** a uma solução de 2 mL de etanol com 0,34 mL de ácido acético glacial a 0°C. Ainda nesta temperatura foi adicionado 0,070 g (1,08 mmol) de azoteto de sódio. A reação foi mantida no refrigerador por 24 horas com agitação ocasional. O solvente foi então removido em evaporador rotativo e o resíduo dissolvido em água e extraído 3 vezes com éter etílico. A fase orgânica foi lavada com bicarbonato de sódio e seca sob MgSO₄. O solvente foi eliminado à pressão reduzida, resultando em um óleo amarelo (0,086 g). A análise deste extrato por RMN-¹H e IV indicou a formação de uma série de produtos que não foram identificados.

- Tentativa 5:

Idem ao procedimento empregado na tentativa 1, com adição de gotas de ácido acético glacial ao solvente DMSO. O produto foi extraído com clorofórmio e purificado em placa preparativa de sílica gel eluindo-se com hexano/acetato de etila (9:1). Do produto isolado foi obtido um espectro de RMN-¹H que indicou a presença de composto(s) não identificado(s).

- Tentativa 6:

Foi dissolvido 0,10 g (1,54 mmol) de azoteto de sódio em 10 mL de acetonitrila e algumas gotas de ácido acético glacial. A mistura reacional foi agitada em banho gelo-seco/etanol a -30°C. Adicionou-se 0,213 g (0,79 mmol) α -bromo-benzoilacetato de etila. 14 dissolvido em 10 mL de acetonitrila durante quinze minutos. Deixou-se o sistema atingir a temperatura ambiente, mantendo sob agitação por 7 horas. O produto foi filtrado e o solvente evaporado a vácuo, obtendo-se um óleo amarelado (0,192 g). A análise do extrato por RMN-¹H e CCD indicou a presença de uma mistura complexa de produtos.

5.2.2. Síntese do α -diazó- β -ceto éster

5.2.2.1. Preparação da *p*-toluenossulfonil azida, 17

Foi preparada uma solução de 3,00 g (46,2 mmol) de NaN₃ em 10 mL de água e diluída em 20 mL de etanol. A esta solução foi adicionada, sob agitação a 45°C, uma solução de 8,01 g (42,0 mmol) de cloreto de tosilato 16 em 50 mL de etanol. Durante esta adição ocorreu precipitação de NaCl. Após duas horas de agitação à temperatura ambiente, a solução foi filtrada e o excesso de solvente removido a vácuo. O resíduo obtido foi diluído em 60 mL de água e o produto extraído com acetato de etila (3x30 mL), lavado com água (2x30 mL) e seco sob MgSO₄. O solvente foi então removido a vácuo, obtendo-se 5,87 g (29,8 mmol) da tosil azida 17, com rendimento de 71%.

5.2.2.2. Preparação do 2-diazo-3-oxo-butanoato de etila, 18

A uma solução de 1,012 g (7,78 mmol) de acetoacetato de etila 2 em 8 mL de acetonitrila, previamente seca e destilada, adicionou-se 1,100 g (7,96 mmol) de K_2CO_3 anidro sob atmosfera de argônio e agitação constante. Foi então adicionada uma solução de 1,545 g (7,83 mmol) da tosil azida 17 em 6 mL de acetonitrila. A reação foi acompanhada por CCD, finalizando-se em aproximadamente 30 minutos. Após este período adicionou-se 10 mL de éter etílico e fez-se a filtração da solução. O solvente foi removido a vácuo e ao óleo residual foi adicionado hexano/éter (2:1) para precipitação da tosil amida 19 formada. O sólido foi filtrado e o sobrenadante evaporado, obtendo-se 1,008 g (6,46 mmol) de um óleo amarelado correspondente ao diazo composto 18 em 83% de rendimento.

5.2.3. Síntese dos α -oximas- β -ceto ésteres

Procedimento Geral:

A uma solução de 50,0 mmol do β -ceto éster 1-5, recém-destilado, em 20 mL de ácido acético glacial, adicionou-se lentamente uma solução de 65,0 mmol de $NaNO_2$ em 12 mL de água, sob banho de gelo, por aproximadamente uma hora. A mistura foi mantida sob agitação por mais uma hora a 25°C. Adicionaram-se 30 mL de água ao meio e fez-se a extração com éter etílico (4x30 mL). Os extratos foram combinados, lavados com uma solução diluída de bicarbonato de sódio (2x30 mL) e depois com água, e secos sob sulfato de magnésio. O solvente foi removido a vácuo, obtendo-se os respectivos α -oximas- β -ceto ésteres 20-24 como mistura dos isômeros *E/Z* determinada por RMN- 1H e CG/EM.

5.2.3.1. Preparação do 2-hidroxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, 20

Foram utilizados 5,002g (26,0mmol) de benzoilacetato de etila 1 (122°C, 2-3mmHg). Ocorreu formação de um precipitado branco, que foi removido por meio de filtração vácuo e lavado com água. O sólido foi recristalizado em água-etanol 40% (v/v), filtrado e seco ao ar e à temperatura ambiente, e depois em dessecador a vácuo por uma noite. Foram obtidos 4,971g (22,5mmol, 87%) da oxima 20 (p.f. 121-121,5°C) numa proporção *E:Z* de 2:98.

5.2.3.2. Preparação do 2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila, 21

Foram utilizados 10,007 g (76,9 mmol) de acetoacetato de etila **2** (94-98°C, 42 mmHg), obtendo-se 10,042 g (63,1 mmol, 82%) de um óleo amarelado correspondente a uma mistura 8:92 dos isômeros *E:Z* da oxima **21**.

5.2.3.3. Preparação do 2-hidroxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, 22

Foram utilizados 10,015 g (77,0 mmol) de propionil acetato de metila **3** (73-75°C, 5 mmHg), obtendo-se 10,243 g (64,4 mmol, 84%) de um óleo amarelado correspondente a uma mistura 8:92 dos isômeros *E:Z* da oxima **22**.

5.2.3.4. Preparação do 2-hidroxilimino-4-metoxi-3-oxo-butanoato de metila, 23

Foram utilizados 10,087 g (69,0 mmol) de 4-metoxi-acetoacetato de metila **4**, (85°C, 6 mmHg), obtendo-se 6,128 g (35,0 mmol, 51%) de um sólido amarelado (p.f. 102-104 °C) correspondente a uma mistura 12:88 dos isômeros *E:Z* da oxima **23**.

5.2.3.5. Preparação do 2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, 24

Foram utilizados 10,022 g (52,1 mmol) de acetoacetato de benzila **5**, obtendo-se 10,642 g (48,1 mmol, 92%) de um óleo incolor correspondente a uma mistura 9:19 dos isômeros *E:Z* da oxima **24**.

5.2.4. Síntese dos α -(*O*-alquil-oximas)- β -ceto ésteres

Procedimento Geral:

A uma dispersão de 25,0 mmol do α -oxima- β -ceto éster **20-24** e 27,5 mmol de óxido de prata em 30 mL de diclorometano adicionou-se, gota a gota, 7,5 mL (120 mmol) de iodeto de metila em 10 mL de diclorometano, com agitação constante e sob banho de gelo. A reação foi acompanhada por CCD. Após uma hora de reação, a suspensão foi filtrada sob celite em funil de placa porosa e o solvente removido a vácuo. Foram obtidos os isômeros *E/Z* dos α -(*O*-alquil-oximas)- β -ceto ésteres **25-30** (proporção determinada por RMN-¹H e CG/EM), que foram separados em coluna cromatográfica de média pressão (CLME) com sílica-gel *flash* eluindo-se com hexano/acetato de etila (9,5:0,5).

5.2.4.1. Preparação do 2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, **25**

Foram utilizados 2,524 g (11,4 mmol) do 2-hidroxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila **20**, obtendo-se 2,593 g (11,0 mmol, 96%) de um óleo amarelado correspondente aos isômeros da oxima metilada **25** na proporção *E:Z* de 95:5, que foram separados por CLME.

5.2.4.2. Preparação do 2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, **26**

Foram utilizados 6,670 g (42,0 mmol) do 2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila **21**, obtendo-se 7,065 g (40,8 mmol, 97%) de um óleo amarelado correspondente à oxima metilada **26** na proporção *E:Z* de 36:64, que foram separados por CLME.

5.2.4.3. Preparação do 2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, **27**

Foram utilizados 4,903 g (30,8 mmol) do 2-hidroxilimino-3-oxo-pentanoato de metila **22**, obtendo-se 4,970 g (28,7 mmol, 93%) de um óleo amarelado correspondente aos isômeros da oxima metilada **27** na proporção *E:Z* de 25:75, que foram separados por CLME.

5.2.4.4. Preparação do 2-metoxilimino-4-metoxi-3-oxo-butanoato de metila, 28

Foram utilizados 4,007 g (22,9 mmol) do 2-hidroxilimino-4-metoxi-3-oxo-butanoato de metila **23**, obtendo-se 3,678 g (19,4 mmol, 85%) de um óleo amarelado correspondente aos isômeros da oxima metilada **28** na proporção *E:Z* de 13:87, sendo *Z* isolado por CLME.

5.2.4.5. Preparação do 2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, 29

Foram utilizados 5,076 g (22,9 mmol) do 2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de benzila **24**, obtendo-se 5,062 g (24,5 mmol, 94%) de um óleo amarelado correspondente aos isômeros da oxima metilada **29** na proporção *E:Z* de 19:81, que foram separados por CLME.

5.2.4.6. Preparação do 2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, 30

Foram utilizados 5,003 g (31,4 mmol) do 2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila **21**, 6,012 mL (47,2 mmol) de cloreto de benzila como agente alquilante e excesso de iodeto de sódio. Após 3 horas de reação, obtiveram-se 6,750 g (27,1 mmol, 86%) de um óleo amarelado correspondente aos isômeros da oxima benzilada **30** na proporção *E:Z* de 45:55, que foram separados por CLME.

5.2.5. Síntese dos α -(*O*-acil-oximas)- β -ceto ésteres

5.2.5.1. Preparação do 2-acetoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, 31

Foram dissolvidos 1,090 g (6,85 mmol) do 2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila **21** em 15 mL de anidrido acético recém destilado. A solução foi mantida sob agitação por 24 horas à temperatura ambiente. Após este período adicionaram-se 30 mL de água e 15 mL de clorofórmio. A mistura foi neutralizada com NaHCO₃ e lavada com água (3x30 mL). A fase orgânica foi separada e seca sob MgSO₄, e o solvente removido a vácuo. Foram obtidos 1,251 g (6,22 mmol) de um óleo amarelado correspondente à oxima acetilada **31**, exclusivamente na configuração *Z*, com rendimento de 91%.

5.3. Reduções Microbiológicas

5.3.1. Testes Preliminares sobre a Biorredução dos compostos α -nitrogenados derivados de β -ceto ésteres

Procedimento Geral:

- *Imobilização do Fermento de Pão em Montmorilonita K10*

Em um balão de fundo redondo com capacidade de 2 L e duas bocas, adicionaram-se 20 g fermento de pão liofilizado a uma suspensão de 20 g de montmorilonita K10 em 1 L de água a 30°C, agitando-se gentilmente por uma hora. Após filtração a vácuo, o fermento imobilizado foi suspenso em uma solução aquosa de KCl 2% e mantido no refrigerador até o momento de sua utilização.

- *Redução com Fermento de Pão Fresco Imobilizado (FPI) em Montmorilonita*

Em balão de fundo redondo com capacidade de 1 L e duas bocas, foram colocados 25 g do complexo FPI/montmorilonita K10, 25 g de açúcar comercial e 500 mL de solução de KCl 2%. A mistura foi mantida a 30°C em banho termostaticado por 30 minutos sob agitação mecânica. Adicionou-se lentamente à suspensão 1 mmol do substrato dissolvido em 5 mL de etanol. Após 48 horas de reação, filtrou-se a mistura sob vácuo, saturando-se o filtrado com NaCl sólido. A extração foi feita com acetato de etila. O extrato bruto obtido foi analisado por RMN-¹H e purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel eluindo-se com hexano/acetato de etila (9:1).

5.3.1.1. *Redução do 2-bromo-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, 14*

Foi utilizado 0,501 g (1,84 mmol) α -bromo-benzoilacetato de etila 14, obtendo-se após purificação 0,222 g (1,14 mmol; 62%) de um óleo amarelado correspondente ao 3-hidroxi-3-fenil-propionato de etila 32, indicando a ocorrência da redução e ainda uma debromação do composto formado (e/ou do material de partida).

5.3.1.2. Redução do 2-diazo-3-oxo-butanoato de etila, 18

Foi utilizado 0,312 g (2,00 mmol) 2-diazo-3-oxo-butanoato de etila **18**, recuperando-se após 120 horas de reação 0,098 g do material de partida, não havendo indícios da redução ao composto desejado.

5.3.1.3. Redução do 2-hidroxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, 20

Foi utilizado 0,501 g (2,26 mmol) do 2-hidroxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila **20**, recuperando-se após 120 horas de reação 0,089 g do material de partida, não havendo indícios da redução ao composto desejado.

5.3.1.4. Redução do 2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, 25

Foi utilizado 0,470 g (2,00 mmol) do 2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila **25**, recuperando-se após purificação 0,045 g (0,19 mmol; 9%) do 3-hidroxi-2-metoxilimino-3-fenil-propionato de etila **33**, $[\alpha]_D^{21} = -115^\circ$ (c=2,3, CHCl₃), e 0,067 g (0,28 mmol, 14%) do material de partida, correspondendo a um grau de conversão em torno de 40% para o composto reduzido desejado.

5.3.1.5. Redução do 2-acetoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, 31

Foi utilizado 0,311 g (1,55 mmol) do 2-acetoxilimino-3-oxo-butanoato de etila **31**, obtendo-se após 48 horas de reação 0,087 g de um óleo amarelado correspondente ao 2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila **21**, indicando a ocorrência da desacetilação do material de partida.

5.3.2. Otimização da Biorredução de α -O-alkil-oximas

Procedimento Geral:

Em um Erlenmeyer de 125 mL, foram colocados 7,5 g de FPI/montmorilonita K10, 7,5 g de açúcar comercial e 75 mL de uma solução de KCl 2%. A mistura foi mantida por 30 minutos a 30°C em banho termostatzado com agitação tipo Dubnoff. Adicionaram-se lentamente à suspensão 80 mg (0,34 mmol) do substrato 2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila **25** dissolvido em 1mL de etanol. Após 90 horas de reação, filtrou-se a mistura a vácuo, saturando o filtrado com NaCl sólido. A extração foi feita manualmente com clorofórmio. O extrato bruto obtido foi analisado por RMN- ^1H , calculando-se o grau de conversão do material de partida no produto reduzido.

5.3.2.1. Estudo sobre o Efeito de Aditivos na Biorredução

Os ensaios foram realizados segundo o procedimento geral com a adição à suspensão de fermento de pão, dos aditivos descritos na Tabela 5.1.

Tabela 5.1: Efeito do uso de aditivos na biorredução

Ensaio	aditivos	relação	m _{aditivo} /mg	conversão(%)
1	CaCl ₂ .2 H ₂ O	1mmol/1mmol subst.	50	21%
2	ZnSO ₄ .7 H ₂ O	1mmol/1mmol subst	100	12%
3	MgSO ₄ .6 H ₂ O	1mmol/1mmol subst	70	15%
	uréia	2g/L	150	
4	MgSO ₄	0,5g/L	40	13%
	H ₃ PO ₄ /K ₂ HPO ₄	pH 4-5	--	
5	CuO	1mmol/1mmol subst	30	12%
6	--	--	--	18%

5.3.2.2. Estudo sobre o Efeito de Íons Cálcio na Biorredução

Os ensaios foram realizados segundo o procedimento geral com a adição de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em várias concentrações, à suspensão de fermento de pão em 50 mL de solução, conforme a Tabela 5.2:

Tabela 5.2: Efeito da adição de íons cálcio na biorredução

Ensaio	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ /subst. (mmol/mmol)	Conc. (g L ⁻¹)	conversão (%)
1	1	1,5	26
2	3	4,5	26
3	5	7,5	27
4	10	15	29
5	20	30	28

5.3.2.3. Estudo sobre o Efeito do pH na Biorredução

Os ensaios foram realizados segundo o procedimento geral com a variação do pH do meio fermentativo. Os resultados, assim como a preparação das soluções para o tamponamento, estão descritos na Tabela 5.3:

Tabela 5.3: Efeito do variação do pH na biorredução

Ensaio	pH	solução tampão*			conversão (%)
		$\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_4\text{K}$ 0,1M	KH_2PO_4 0,1M	NaOH 0,1M	
1	4	50,0mL	--	0,4mL	11
2	5	50,0mL	--	23,8mL	12
3	6	--	50,0mL	5,7mL	17
4	7	--	50,0mL	29,6mL	14
5	8	--	50,0mL	46,8mL	14

*completar com água até 100,0mL

5.3.2.4. Estudo sobre o Efeito da Variação da Temperatura na Biorredução

Os ensaios foram realizados segundo o procedimento geral, variando a temperatura entre 30 e 40°C, conforme a Tabela 5.4:

Tabela 5.4: Efeito da variação da temperatura na biorredução

Ensaio	Temperatura/°C	conversão (%)
1	30	15
2	35	18
3	37	25
4	40	13

5.3.2.5. Estudo sobre a Variação da relação Fermento/substrato na Biorredução

Os ensaios foram realizados segundo o procedimento geral, variando a concentração de fermento de pão com relação ao substrato, conforme a Tabela 5.5:

Tabela 5.5: Efeito da variação da relação fermento/substrato na biorredução

Ensaio	fermento/substrato (g/mmol)	m _{FPI} (g)	Conc. (g L ⁻¹)	conversão (%)
1	10	3,5	50	13
2	20	7,0	100	19
3	40	14	200	30

5.3.2.6. Estudo sobre a Variação da Concentração de Açúcar na Biorredução

Os ensaios foram realizados segundo o procedimento geral, variando a concentração de açúcar na suspensão de fermento de pão em 50 mL de solução, conforme a Tabela 5.6:

Tabela 5.6: Efeito da adição de açúcar, de ions cálcio e do suporte na fermentação

Ensaio	m _{açúcar} /g	Conc./g L ⁻¹	conversão(%)
1	-	0	9
2	2,5	50	11
3	5,0	100	24
4	10,0	200r	14

5.3.3. Redução de Microbiológica de α -O-alkil-oximas

Procedimento Geral - Condições Otimizadas:

Em balão de fundo redondo com capacidade de 500 mL de duas bocas, foram colocados 20g do complexo FPI/montmorilonita K10 recém imobilizado, 1,5 g (10 mmol) de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 10 g de açúcar comercial e 200 mL de uma solução aquosa KCl 2%. A mistura foi mantida a pH 6 e a 37°C em banho termostaticado sob agitação mecânica. Após 30 minutos, adicionaram-se lentamente à suspensão 2 mmol do substrato dissolvido em 3 mL de etanol. Após 48 horas de reação, filtrou-se a mistura sob vácuo, saturando o filtrado com NaCl sólido. A extração foi feita em extrator contínuo líquido-líquido por 48 horas utilizando-se como solvente clorofórmio ou diclorometano. O produto foi destilado em Kugelrohr e purificado em coluna cromatográfica de sílica-gel, eluindo-se com hexano/acetato de etila (9:1).

5.3.3.1. Redução do (E)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (E)-25

Foi utilizado 0,520 g (2,21 mmol) do (E)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila (E)-25 em 64 horas de reação, recuperando-se após purificação 0,081 g (0,34 mmol; 15%) do 3-hidroxi-(E)-2-metoxilimino-3-fenil-propionato de etila (E)-33 e 0,109 g (0,46 mmol, 21%) do material de partida. Esta reação foi previamente monitorada por CG/EM, com alíquotas em 24, 48, 64, 90, 120, e 180 horas.

5.3.3.2. Redução do (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-26

Foi utilizado 0,500 g (2,89 mmol) do (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (Z)-26 em 18 horas de reação, recuperando-se após purificação 0,180 g (1,03 mmol; 36%) do 3-hidroxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de etila (Z)-34 e 0,020 g (0,08 mmol, 6%) de um produto identificado como 3,6-dimetil-pirazina-2,5-dicarboxilato de etila 39.

5.3.3.3. Redução do (*E*)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (*E*)-26

Foi utilizado 0,502 g (2,89 mmol) do (*E*)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (*E*)-26 em 40 horas de reação, recuperando-se após purificação 0,145 g (0,83 mmol; 29%) do 3-hidroxi-(*E*)-2-metoxilimino-butanoato de etila (*E*)-34 e 0,149 g (0,86 mmol, 30%) do material de partida. Esta reação foi previamente monitorada por CG/EM, com alíquotas em 18, 40, 64, 90, 112, e 160 horas.

5.3.3.4. Redução do (*Z*)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (*Z*)-27

Foi utilizado 0,499 g (2,88 mmol) do (*Z*)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila (*Z*)-27 em 40 horas de reação, recuperando-se após purificação 0,051 g (0,29mmol; 10%) do 3-hidroxi-(*Z*)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila (*Z*)-35 e 0,204 g (1,18 mmol; 41%) do material de partida.

5.3.3.5.Redução do (*E*)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (*E*)-27

Foi utilizado 0,495 g (2,86 mmol) do (*E*)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila (*E*)-27 em 64 horas de reação, recuperando-se após purificação 0,054 g (0,31mmol; 11%) do 3-hidroxi-(*E*)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila (*E*)-35 0.208 g (1,20 mmol; 42%) do material de partida. Esta reação foi previamente monitorada por CG/EM, com alíquotas em 20, 40, 64 e 90 horas.

5.3.3.6. Redução do (*Z*)-2-metoxilimino-4-metoxi-3-oxo-butanoato de metila, (*Z*)-28

Foi utilizado 0,501 g (2,65 mmol) do (*Z*)-2-metoxilimino-4-metoxi-3-oxo-butanoato de metila (*Z*)-28 em 64 horas de reação, recuperando-se após purificação 0,189 g (0,99 mmol; 37%) do 3-hidroxi-(*Z*)-2-metoxilimino-4-metoxi-3-oxo-butanoato de metila (*Z*)-36 e 0,081 g (0,43 mmol; 16%) do material de partida.

5.3.3.7. Redução do (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-29

Foi utilizado 0,500 g (2,13 mmol) do (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila (Z)-29 em 18 horas de reação, recuperando-se após purificação 0,020 g (0,08 mmol; 4%) do 3-hidroxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de benzila (Z)-37 e 0,068 g (0,63 mmol; 30%) de álcool benzílico 40.

5.3.3.8. Redução do (Z)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-30

Foi utilizado 0,508 g (2,04 mmol) do (Z)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (Z)-30 em 24 horas de reação, recuperando-se após purificação 0,021 g (0,08 mmol; 4%) do 3-hidroxi-(Z)-2-benzoxilimino-butanoato de etila (Z)-38, 0,170 g (1,57 mmol; 77%) de álcool benzílico 40 e traços do 3,6-dimetil-pirazina-2,5-dicarboxilato de etila 39.

5.3.3.9. Reação do (±)-3-hidroxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de etila (Z)-34 com FPI

Foi utilizado 0,303 g (1,73 mmol) de (±)-3-hidroxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de etila (Z)-34, obtendo-se, após 150 horas, 0,239 g de um óleo bruto correspondente ao material de partida. A reação foi monitorada por CG/EM e RMN-¹H, com alíquotas de 10, 40, 90, 120 e 150 horas.

5.4. Preparação das β -hidroxi- α -O-alkuil oximas Racêmicas

5.4.1. Testes Preliminares sobre a Síntese dos α -(O-alkuil-oximas)- β -hidroxi ésteres racêmicos

5.4.1.1. Preparação do 3-hidroxi-(*Z*)-2-metoxilimino-butanoato de etila racêmico

Foi dissolvido 0,099 g (0,57 mmol) do (*Z*)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (*Z*)-26, em 5 mL THF/metanol (10:1) sob banho de gelo e agitação constante. Adicionou-se 0,080 g (2,15 mmol) de boroidreto de sódio gradualmente em pequenas porções. A reação foi acompanhada por CCD. Após 10 minutos adicionou-se solução de HCl diluído até neutralização do meio. O solvente foi destilado e o resíduo dissolvido com 5 mL água, saturado com NaCl e extraído com éter etílico (4x10 mL). Os extratos foram combinados, lavados com salmoura e secos sob sulfato de magnésio. O solvente foi removido a vácuo, obtendo-se um óleo correspondente ao álcool racêmico (*Z*)-34.

5.4.1.2. Preparação do 3-hidroxi-(*E*)-2-metoxilimino-butanoato de etila racêmico

- Tentativa 1:

Idem ao procedimento 5.4.1.1. Foi utilizado 0,107 g (0,62 mmol) de (*E*)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (*E*)-26, obtendo-se um produto identificado como uma mistura 1:1 dos isômeros *E* e *Z*-2-metoxilimino-1,3-butanodióis 43.

- Tentativa 2:

A uma solução de 0,101 g (0,58 mmol) de (*E*)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (*E*)-26 em 1 mL metanol, adicionou-se metilorange como indicador e 0,025 g (0,40 mmol) de ciano boroidreto de sódio, sob agitação constante e à temperatura ambiente. A solução adquiriu uma cor avermelhada, que após a adição de uma solução HCl-metanol 2N, gota a gota, passou a alaranjada. Em uma hora de reação, houve mudança lenta da coloração em direção ao vermelho. A solução de HCl-metanol 2N foi então adicionada ocasionalmente

para restaurar o alaranjado por um período de 5 horas. O solvente foi evaporado e o resíduo dissolvido com 5 mL água, saturado com NaCl e extraído com éter etílico (4x5 mL). Os extratos foram combinados, lavados com salmoura e secos sob sulfato de magnésio. O solvente foi removido a vácuo, obtendo-se 0,095 g de um óleo contendo em grande parte o reagente, cerca de 20% do álcool (*E*)-34 desejado e traços do diol 43.

- Tentativa 3:

Idem ao procedimento 5.4.1.1. Foi utilizado 0,095 g (0,55 mmol) de (*E*)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (*E*)-26, mantendo-se o sistema sob baixa temperatura com banho gelo seco/etanol. Após 3 horas de reação à -70°C aproximadamente, obteve-se um óleo amarelado correspondente ao álcool racêmico desejado (*E*)-34.

5.4.2. Síntese Racêmica (*Z*)- α -(*O*-alquil-oximas)- β -hidroxi ésteres

Procedimento Geral:

A uma solução de 1 mmol dos (*Z*)- α -(*O*-alquil-oxima)- β -ceto ésteres (*Z*)-26-30, em 10 mL THF/metanol (10:1) sob banho de gelo, adicionou-se 4 mmol de boroidreto de sódio em pequenas porções. A reação foi acompanhada por CCD. Após 10 minutos adicionou-se uma solução de HCl diluído até neutralização do meio. O solvente foi destilado e o resíduo dissolvido com 10 mL de água, saturado com NaCl e extraído com éter etílico (4x15 mL). Os extratos foram combinados, lavados com salmoura e secos sob sulfato de magnésio. O solvente foi removido a vácuo, obtendo-se os respectivos (*Z*)- α -(*O*-alquil-oximas)- β -hidroxi ésteres racêmicos (*Z*)-34-38.

5.4.2.1. Preparação do ($\pm$)-3-hidroxi-(*Z*)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (*Z*)-34

Foi utilizado 0,251 g (1,45 mmol) do (*Z*)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (*Z*)-26, obtendo-se 0,199 g (1,14 mmol; 79%) do ($\pm$)-3-hidroxi-(*Z*)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (*Z*)-34.

5.4.2.2. Preparação ($\pm$)-3-hidroxi-(Z)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (Z)-35

Foi utilizado 0,100 g (0,58 mmol) do (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila (Z)-35, obtendo-se 0,073 g (0,42 mmol; 72%) do ($\pm$)-3-hidroxi-(Z)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (Z)-35.

5.4.2.3. Preparação do ($\pm$)-3-hidroxi-(Z)-2-metoxilimino-4-metoxi-butanoato de metila, (Z)-36

Foi utilizado 0,114 g (0,60 mmol) do (Z)-2-metoxilimino-4-metoxi-3-oxo-butanoato de metila (Z)-28, obtendo-se 0,089 g (0,47 mmol; 78%) do ($\pm$)-3-hidroxi-(Z)-2-metoxilimino-4-metoxi-butanoato de metila, (Z)-36.

5.4.2.4. Preparação ($\pm$)-3-hidroxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (Z)-37

Foi utilizado 0,098 g (0,42 mmol) do (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila (Z)-29, obtendo-se 0,079 g (0,33 mmol; 78%) do ($\pm$)-3-hidroxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (Z)-37.

5.4.2.5. Preparação do ($\pm$)-3-hidroxi-(Z)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (Z)-38

Foi utilizado 0,065 g (0,26 mmol) do (Z)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (Z)-30, obtendo-se 0,055 g (0,22 mmol; 85%) do ($\pm$)-3-hidroxi-(Z)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (Z)-38.

5.4.3. Síntese Racêmica (*E*)- α -(*O*-alquil-oximas)- β -hidroxi ésteres

Procedimento Geral:

A uma solução de 1 mmol dos (*E*)- α -(*O*-alquil-oxima)- β -ceto ésteres (*E*)-25-30, em 10 mL THF/metanol (10:1) sob banho de gelo seco/etanol, adicionaram-se 4 mmol de boroidreto de sódio em pequenas porções. A reação foi acompanhada por CCD. Após 3 horas à temperatura -70°C, adicionou-se uma solução de HCl diluído até neutralização do meio. O solvente foi destilado e o resíduo dissolvido com 10 mL de água, saturado com NaCl e extraído com éter etílico (4x15 mL). Os extratos foram combinados, lavados com salmoura e secos sob sulfato de magnésio. O solvente foi removido a vácuo, obtendo-se os respectivos (*E*)- α -(*O*-alquil-oximas)- β -hidroxi ésteres racêmicos (*E*)-33-38.

5.4.3.1. Preparação do ($\pm$)-3-hidroxi-(*E*)-2-metoxilimino-3-fenil-propionato de etila, (*E*)-33

Foi utilizado 0,323 g (1,37 mmol) do (*E*)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila (*E*)-25, obtendo-se 0,276 g (1,16 mmol; 85%) do ($\pm$)-3-hidroxi-(*E*)-2-metoxilimino-3-fenil-propionato de etila, (*E*)-33.

5.4.3.2. Preparação do ($\pm$)-3-hidroxi-(*E*)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (*E*)-34

Foi utilizado 0,151 g (0,87 mmol) do (*E*)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (*E*)-26, obtendo-se 0,109 g (0,62 mmol; 71%) do ($\pm$)-3-hidroxi-(*E*)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (*E*)-34.

5.4.3.3. Preparação ($\pm$)-3-hidroxi-(*E*)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (*E*)-35

Foi utilizado 0,100 g (0,58 mmol) do (*E*)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila (*E*)-35, obtendo-se 0,072 g (0,41 mmol; 71%) do ($\pm$)-3-hidroxi-(*E*)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (*E*)-35.

5.4.3.4. *Preparação ($\pm$)-3-hidroxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (E)-37*

Foi utilizado 0,084 g (0,36 mmol) do (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila (E)-29, obtendo-se 0,069 g (0,29 mmol; 81%) do ($\pm$)-3-hidroxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (E)-37.

5.4.3.5. *Preparação do ($\pm$)-3-hidroxi-(E)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (E)-38*

Foi utilizado 0,108 g (0,43 mmol) do (E)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (E)-30, obtendo-se 0,090 g (0,36 mmol; 84%) do ($\pm$)-3-hidroxi-(E)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (E)-38.

5.4.4. Síntese Racêmica dos (E)- e (Z)-2-(O-alkil-oximas)-1,3-dióis

Procedimento Geral:

A uma solução de 1 mmol dos (E)- α -(O-alkil-oxima)- β -ceto ésteres (E)-25-30, em 10 mL THF/metanol (10:1) sob banho de gelo, adicionaram-se 4 mmol de boroidreto de sódio em pequenas porções. A reação foi acompanhada por CCD. Após 30 minutos adicionou-se uma solução de HCl diluído até neutralização do meio. O solvente foi destilado e o residuo dissolvido com 10 mL de água, saturado com NaCl e extraído com éter etílico (4x15 mL). Os extratos foram combinados, lavados com salmoura e secos sob sulfato de magnésio. O solvente foi removido a vácuo, obtendo-se uma mistura aproximadamente 1:1 dos isômeros (E)-e (Z)-2-(O-alkil-oximas)-1,3-dióis racêmicos (E)- e (Z)-42-45.

5.4.4.1. *Preparação do ($\pm$)-2-metoxilimino-3-fenil-1,3-butanodiol, 42*

Foi utilizado 0,104 g (0,44 mmol) do (E)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila (E)-25, obtendo-se 0,083 g (0,35 mmol; 80%) de uma mistura 1:1 dos isômeros (E)- e (Z)-($\pm$)-2-metoxilimino-3-fenil-1,3-butanodióis, (E)- e (Z)-42.

5.4.4.2. Preparação do ($\pm$)-2-metoxilimino-1,3-butanodiol, 43

Foi utilizado 0,256 g (1,48 mmol) do (*E*)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (*E*)-26, obtendo-se 0,140 g (1,05 mmol; 71%) de uma mistura 1:1 dos isômeros (*E*)- e (*Z*)-($\pm$)-2-metoxilimino-1,3-butanodióis, (*E*)- e (*Z*)-43.

5.4.4.3. Preparação do ($\pm$)-2-metoxilimino-1,3-pentanodiol, 44

Foi utilizado 0,114 g (0,66 mmol) do (*E*)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila (*E*)-35, obtendo-se 0,075 g (0,51 mmol; 77%) de uma mistura 1:1 dos isômeros (*E*)- e (*Z*)-($\pm$)-2-metoxilimino-1,3-pentanodióis, (*E*)- e (*Z*)-44.

5.4.4.4. Preparação do ($\pm$)-2-metoxilimino-1,3-butanodiol, 43

Foi utilizado 0,099 g (0,42 mmol) do (*E*)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila (*E*)-29, obtendo-se 0,040 g (0,30 mmol; 74%) de uma mistura 1:1 dos isômeros (*E*)- e (*Z*)-($\pm$)-2-metoxilimino-1,3-butanodióis, (*E*)- e (*Z*)-43.

5.4.4.5. Preparação do ($\pm$)-2-benzoxilimino-1,3-butanodiol, 45

Foi utilizado 0,058 g (0,23 mmol) do (*E*)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (*E*)-30, obtendo-se 0,040 g (0,19 mmol; 83%) de uma mistura 1:1 dos isômeros (*E*)- e (*Z*)-($\pm$)-2-benzoxilimino-1,3-butanodióis, (*E*)- e (*Z*)-43.

5.5. Determinação da Pureza Enantiomérica das β -hidroxi- α -O-alkil oximas

Os excessos enantioméricos, *ee*, dos álcoois **33-38** obtidos via redução microbiológica, foram determinados através de Cromatografia Gasosa com fase estacionária quiral de (-)- β -ciclo-dextrina, conforme exemplificado pela sobreposição dos cromatogramas dos compostos racêmicos e enantiomericamente enriquecidos (*Z*)-**34** e (*E*)-**35**.

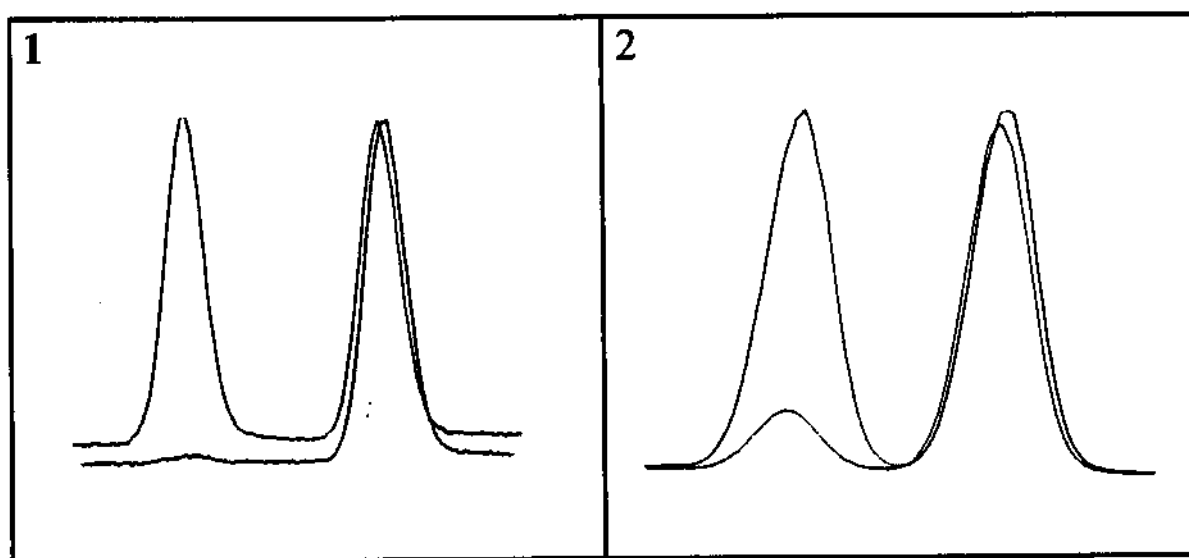


Figura 5.1: Cromatogramas: 1) 3-hidroxi-(*Z*)-2-metoxilimino-butanoato de etila (*Z*)-**34**; 2) 3-hidroxi-(*E*)-2-metoxilimino-pentanoato de metila (*E*)-**35**.

A partir dos dados obtidos dos cromatogramas foi possível calcular os valores para os excessos enantioméricos da seguinte forma:

$$ee = \frac{\%r - \%s}{\%r + \%s}$$

onde %r e %s são as porcentagens dos isômeros quirais, independentemente da configuração absoluta. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 3.13.

5.6. Preparação dos β -hidroxi- α -amino ácidos e α -amino álcoois

5.6.1. Síntese dos β -hidroxi- α -amino ácidos

5.6.1.1. Preparação do 2-amino-3-hidroxi-butanoato de etila, 46

- Tentativa 1: ($BH_3 \cdot THF$, ta)

A uma solução de 0,100 mg (0,57 mmol) do (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (Z)-26 em 10 mL de THF anidro, sob atmosfera inerte de argônio e banho de gelo, cuidadosamente adicionou-se 0,7 mL (0,70 mmol) de uma solução de $BH_3 \cdot THF$ 1M. Após um período de 24 horas de reação à temperatura ambiente, adicionaram-se, sob banho de gelo, 2 mL de água destilada e neutralizou-se o meio com K_2CO_3 . O produto foi extraído com éter etílico (3x10 mL), os extratos foram combinados, lavados com uma solução aquosa saturada com NaCl e secos sob $MgSO_4$. O solvente foi removido a vácuo, obtendo-se 64 mg de um óleo amarelado correspondente ao material de partida.

- Tentativa 2: ($BH_3 \cdot THF$, refluxo)

Idem ao procedimento empregado na tentativa 1, mantendo-se a reação sob refluxo por 24 horas após a adição dos reagentes sob atmosfera inerte. O produto foi obtido como um óleo amarelado correspondente ao material de partida inalterado.

- Tentativa 3: (H_2 , Pd-C)

Uma suspensão de 20 mg (0,11 mmol) do (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (Z)-26 e 10 mg de Pd-C em 5 mL de etanol foi submetida a hidrogenação à temperatura ambiente por 24 horas sob 3, 5 e até 10 atmosferas de pressão de H_2 . O catalisador foi filtrado sob celite e o solvente removido a vácuo. Em todos os casos foi recuperado o material de partida sem resultados significativos.

- Tentativa 4: (H_2 , Ni-Raney)

Uma suspensão de 20 mg (0,11 mmol) do (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (**Z**)-26 e 10 mg de Ni-Raney em 5 mL de etanol foi submetida a hidrogenação à temperatura ambiente por 24 horas sob 5 atmosferas de pressão de H_2 . O catalisador foi filtrado sob celite e o solvente removido a vácuo, sendo o material de partida recuperado em quase sua totalidade.

Preparação do catalisador de Ni-Raney

O catalisador Ni-Raney (W-2) foi preparado a partir da reação da liga Ni-Al (Raney) 50% com uma solução aquosa NaOH sob banho de gelo e forte agitação. Após um período de 2 horas à temperatura ambiente, o sobrenadante foi decantado e o catalisador lavado várias vezes com água até completa neutralização, e depois com etanol absoluto. O catalisador foi mantido em suspensão (Ni-Raney é altamente pirofórico) e armazenado em refrigerador até uso posterior.

- Tentativa 5: (Zn, HCO_2H)

A uma solução de 0,100 mg (0,57 mmol) do (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (**Z**)-26 em 6 mL de etanol e 4 mL de ácido fórmico aquoso 50%, adicionou-se sob banho de gelo, 0,064 g (0,98 mmol) de zinco pulverizado em pequenas porções durante 30 minutos. Após um período de 2 horas de reação à temperatura ambiente, os sólidos foram filtrados e lavados com água. A fase aquosa foi tratada com NH_4OH até pH 8 e então extraída com acetato de etila (4x10 mL). Os extratos foram combinados, lavados com uma solução aquosa saturada com NaCl e secos sob $MgSO_4$. O solvente foi removido a vácuo, obtendo-se um óleo amarelado correspondente ao material de partida.

5.6.2. Síntese dos β -hidroxi- α -amino álcoois

5.6.2.1. Preparação do 2-amino-1,3-butanodiol, 47

- Tentativa 1: (LiAlH_4 , ta)

A uma solução de 0,158 mg (0,90 mmol) do (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila (Z)-26 em 10 mL de THF anidro, sob atmosfera inerte de argônio e banho de gelo, adicionou-se 0,170 g (4,42 mmol) de LiAlH_4 pulverizado em pequenas porções durante 30 minutos. Após um período de 24 horas de reação à temperatura ambiente, o excesso de hidreto de lítio e alumínio foi destruído adicionando-se cuidadosamente uma solução NaOH 1M. Os sólidos foram filtrados e lavados com éter etílico. A fase aquosa foi então extraída com acetato de etila (4x10 mL). Os extratos foram combinados, lavados com uma solução aquosa saturada com NaCl e secos sob MgSO_4 . O solvente foi removido a vácuo, obtendo-se um óleo amarelado correspondente ao material de partida inalterado.

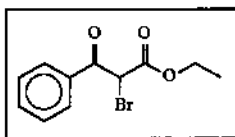
- Tentativa 2: (LiAlH_4 , refluxo)

Idem ao procedimento empregado na tentativa 1, mantendo-se a reação sob refluxo por 24 horas após a adição dos reagentes sob atmosfera inerte. O produto foi obtido como um mistura complexa de difícil caracterização.

Apêndice 1

Dados Espectroscópicos e Espectrométricos dos Compostos

- *2-bromo-3-fenil-3-oxo-propionato de etila*, 14

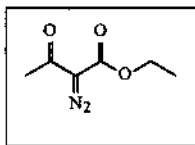


MM : 271,11 g mol⁻¹ (C₁₁H₁₁BrO₃)

IV (filme): 2983, 1759, 1686, 1596, 1448, 1368, 1303, 1258, 1186, 1147, 1096, 1024, 944, 866, 805, 736, 687 cm⁻¹.

RMN-¹H (80MHz, CCl₄/TMS): δ 1,20 (t, J=7,5, 3H, CH₃), 4,20 (q, J=7,5, 2H, CH₂), 5,50 (s, 1H, CHBr), 7,30-7,60 (m, 3H, Ph), 7,90-8,10 (m, 2H, Ph).

- *2-diazo-3-oxo-butanoato de etila*, 19



MM : 156,14 g mol⁻¹.

IV (KBr): 2985, 2361, 2140, 1718, 1660, 1447, 1371, 1318, 1251, 1177, 1075, 1008, 965, 919, 818, 745, 662, 637, 573, 555 cm⁻¹.

AE: C₆H₈N₂O₃ calc. C(%) 46,15 H(%) 5,16 N(%) 17,94

C(%) 45,33 H(%) 4,94 N(%) 17,09

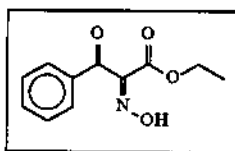
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 128(21), 119(36), 101(100), 83(5), 74(82), 56(48), 45(34).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,33 (t, J=7,1, 3H, CH₂CH₃), 2,47 (s, 3H, COCH₃), 4,30 (q, J=7,1, 2H, CH₂).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 14,30, 28,21, 61,41, 144,62, 161,39, 190,22.

RMN-¹³C (DEPT): δ 14,29(+), 28,21 (+), 61,41(-).

• *(Z)*-2-hidroxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, 20



MM : 221,21 g mol⁻¹.

IV (KBr): 3320, 3061, 3003, 2986, 2863, 1731, 1672, 1596, 1450, 1298, 1271, 1148, 1031, 832, 731, 690 cm⁻¹.

AE: C₁₁H₁₁NO₄ calc. C(%) 59,72 H(%) 4,97 N(%) 6,32
C(%) 61,08 H(%) 4,50 N(%) 6,69

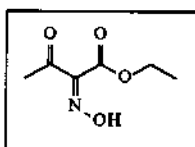
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 221(M⁺,18), 193(5), 175(5), 148(7), 131(2), 105(100), 77(41), 51(14).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃/TMS): δ 1,21 (t, J=7,1, 3H, CH₃), 4,27 (q, J=7,1, 2H, CH₂), 7,51-7,64 (m, 3H, Ph), 7,85-7,89 (m, 2H, Ph).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃/TMS): δ 13,85, 62,69, 129,07, 129,23, 134,16, 134,79, 149,53, 160,76, 190,02.

RMN-¹³C (DEPT): δ 13,84(+), 62,69(-), 129,07(+), 129,22(+), 134,80(+).

• *(Z)*-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila, 21



MM : 159,14 g mol⁻¹.

IV (filme): 3315, 2986, 2940, 2873, 1731, 1698, 1629, 1467, 1445, 1372, 1315, 1240, 1073, 1008, 958, 857, 588 cm⁻¹.

AE: C₆H₉NO₄ calc. C(%) 45,28 H(%) 5,70 N(%) 8,80
C(%) 43,81 H(%) 5,58 N(%) 8,39

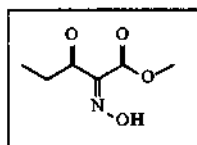
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 159(M⁺,3), 131(51), 113(37), 86(14), 70(5), 43(100).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,34 (t, J=7,1, 3H, CH₂CH₃), 2,40 (s, 3H, COCH₃), 4,37 (q, J=7,1, 2H, CH₂).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 13,69, 25,09, 30,04(E), 62,37, 151,39, 162,13, 194,46.

RMN-¹³C (DEPT): δ 13,71(+), 25,11(+), 30,04(E,+), 62,63(-).

• **(Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, 22**



MM : 159,14 g mol⁻¹.

IV (filme): 3353, 2988, 2888, 1738, 1691, 1629, 1461, 1438, 1405, 1372, 1299, 1219, 1086, 1015, 966, 921, 840, 738, 688, 572 cm⁻¹.

AE: C₆H₉NO₄ calc. C(%) 45,28 H(%) 5,70 N(%) 8,80
C(%) 44,10 H(%) 5,70 N(%) 7,99

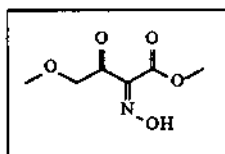
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 159(M⁺,1), 142(3), 128(2), 114(7), 57(100), 43(48).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,11 (t, J=7,3, 3H, CH₂CH₃), 2,82 (q, J=7,3, 2H, CH₂CH₃), 3,90 (s, 3H, OCH₃), 9,97 (s, 1H, NOH).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 6,27(E), 7,16, 30,94, 35,98(E), 52,70, 53,08(E), 150,60, 161,66(E), 162,62, 197,22.

RMN-¹³C (DEPT): δ 6,27(E,+), 7,16(+), 30,89(-), 35,98(E,-), 52,63(+), 53,08(E,+).

• **(Z)-2-hidroxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, 23**



MM : 175,14 g mol⁻¹.

IV (KBr): 3423, 3222, 2955, 2844, 1752, 1705, 1627, 1450, 1386, 1306, 1227, 1201, 1110, 1030, 1005, 959, 933, 837, 789, 681 cm⁻¹.

AE: C₆H₉NO₅ calc. C(%) 41,15 H(%) 5,18 N(%) 8,00
C(%) 41,26 H(%) 5,17 N(%) 7,85

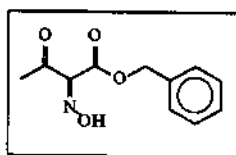
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 158(2), 143(8), 130(3), 115(2), 102(4), 86(12), 72(15), 59(35), 45(100).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 3,48 (s, 3H, CH₂OCH₃), 3,89 (s, 3H, CO₂CH₃, E), 3,92 (s, 3H, CO₂CH₃, Z), 4,35 (s, 2H, CH₂, E), 4,57 (s, 2H, CH₂, Z), 10,71 (s, 1H, NOH).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 52,82 (Z), 53,08 (E), 59,54 (Z), 59,80 (E), 73,63 (Z), 77,16 (E), 148,59 (E), 148,96 (Z), 161,48, 191,75 (Z), 197,97 (E).

RMN-¹³C (DEPT): δ 52,82 (Z,+), 53,08 (E,+), 59,54 (Z,+), 59,79 (E,+), 73,62 (Z,-), 77,16 (E,-).

• *(Z)*-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, 24



MM : 221,21 g mol⁻¹.

IV (filme): 3336, 3035, 2866, 1744, 1684, 1627, 1498, 1456, 1416, 1380, 1313, 1230, 1074, 1007, 961, 908, 753, 698, 590 cm⁻¹.

AE: C₁₁H₁₁NO₄ calc. C(%) 59,73 H(%) 5,01 N(%) 6,33
C(%) 58,32 H(%) 5,14 N(%) 6,14

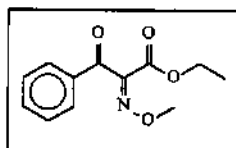
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 221(M⁺,5), 161(2), 117(1), 107(5), 91(100), 77(9), 65(19), 43(84).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 2,38 (s, 3H, COCH₃, *Z*), 2,44 (s, 3H, COCH₃, *E*), 5,29 (s, 2H, CH₂Ph, *E*), 5,34 (s, 2H, CH₂Ph, *Z*), 7,36 (s, 5H, Ph), 10,14 (s, 1H, NOH).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 25,09 (*Z*), 30,07 (*E*), 67,77 (*Z*), 68,01 (*E*), 128,43 (*Z*), 128,74 (*Z*), 128,76 (*Z*), 128,61 (*E*), 128,88 (*E*), 128,94 (*E*), 134,54 (*E*), 134,67 (*Z*), 149,72 (*E*), 151,11 (*Z*), 161,96, 194,44.

RMN-¹³C (DEPT): δ 25,09(+), 67,77(-), 128,43(+), 128,73(+), 128,75(+).

• *(Z)*-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, 25



MM : 235,23 g mol⁻¹.

IV (filme): 3370, 2985, 1745, 1658, 1598, 1448, 1329, 1248, 1138, 1036, 732, 690cm⁻¹

AE: C₁₂H₁₃NO₄ calc. C(%) 61,27 H(%) 5,57 N(%) 5,95
C(%) 61,70 H(%) 4,85 N(%) 5,71

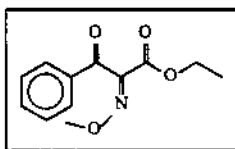
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 235(M⁺,2), 190(5), 162(2), 132(2), 105(100), 77(27), 51(7).

RMN-¹H (300MHz, CCl₄/TMS): δ 1,36 (t, J=7,1, 3H, CH₂CH₃), 4,10 (s, 3H, NOCH₃), 4,32 (q, J=7,1, 2H, CH₂), 7,38-7,55 (m, 3H, Ph), 8,00-8,02 (m, 2H, Ph).

RMN-¹³C (75MHz, CCl₄/TMS): δ 14,02, 61,30, 63,72, 128,22, 130,71, 133,20, 135,95, 150,16, 160,13, 185,60.

RMN-¹³C (DEPT): δ 14,00(+), 61,21(-), 63,63(+), 128,03(+), 130,52(+), 132,99(+).

• **(E)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, 25**



MM : 235,23 g mol⁻¹.

IV (filme): 3424, 2983, 2253, 1743, 1719, 1685, 1596, 1450, 1324, 1255, 1125, 1047, 731, 687 cm⁻¹.

AE: C₁₂H₁₃NO₄ calc. C(%) 61,27 H(%) 5,57 N(%) 5,95
C(%) 61,03 H(%) 5,11 N(%) 5,84

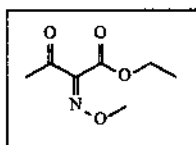
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 235(M⁺, 2), 190(5), 162(2), 132(2), 105(100), 77(28), 51(7).

RMN-¹H (300MHz, CCl₄/TMS): δ 1,29 (t, J=7,1, 3H, CH₃), 3,96 (s, 3H, NOCH₃), 4,24 (q, J=7,1, 2H, CH₂), 7,42-7,53 (m, 3H, Ph), 7,75-7,77 (m, 2H, Ph).

RMN-¹³C (75MHz, CCl₄/TMS): δ 13,95, 61,53, 63,60, 129,05, 129,16, 134,17, 134,86, 149,13, 160,06, 188,69.

RMN-¹³C (DEPT): δ 13,94(+), 61,44(-), 63,52(+), 128,89(+), 129,00(+), 134,01(+).

• **(Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, 26**



MM : 173,17 g mol⁻¹.

IV (filme): 2986, 2945, 2827, 1744, 1692, 1600, 1463, 1446, 1370, 1316, 1236, 1078, 1035, 959, 916, 857, 572 cm⁻¹.

AE: C₇H₁₁NO₄ calc. C(%) 48,56 H(%) 6,40 N(%) 8,09
C(%) 47,68 H(%) 6,13 N(%) 7,95

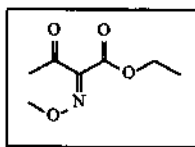
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 173(M⁺, 5), 142(4), 128(14), 100(18), 58(14), 43(100).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,27 (t, J=7,1, 3H, CH₂CH₃), 2,34 (s, 3H, COCH₃), 4,04 (s, 3H, NOCH₃), 4,28 (q, J=7,1, 2H, CH₂).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 13,58, 24,74, 61,84, 64,14, 150,20, 161,31, 193,10

RMN-¹³C (DEPT): δ 13,58(+), 24,75(+), 61,85(-), 64,14(+).

• *(E)*-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, 26



MM : 173,17 g mol⁻¹.

IV (filme): 2985, 2944, 1750, 1726, 1710, 1599, 1373, 1320, 1278, 1228, 1094, 1035, 964, 926, 859, 774 cm⁻¹.

AE: C₇H₁₁NO₄ calc. C(%) 48,56 H(%) 6,40 N(%) 8,09

C(%) 46,22 H(%) 6,11 N(%) 7,90

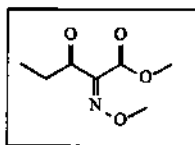
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 173(M⁺,5), 142(4), 128(14), 100(9), 86(5), 58(10), 43(100).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,25 (t, J=7,1, 3H, CH₂CH₃), 2,30 (s, 3H, COCH₃), 3,99 (s, 3H, NOCH₃), 4,25 (q, J=7,1, 2H, CH₂).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 13,53, 29,67, 62,12, 63,93, 150,01, 160,15, 196,74

RMN-¹³C (DEPT): δ 13,53(+), 29,67(+), 62,13(-), 63,94(+).

• *(Z)*-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, 27



MM : 173,17 g mol⁻¹.

IV (filme): 2983, 2946, 1749, 1694, 1601, 1460, 1436, 1369, 1295, 1220, 1084, 1041, 975, 950, 896, 845, 680 cm⁻¹.

AE: C₇H₁₁NO₄ calc. C(%) 48,56 H(%) 6,40 N(%) 8,09

C(%) 45,45 H(%) 6,24 N(%) 7,49

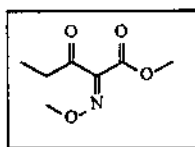
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 173(M⁺,1), 142(33), 131(3), 114(40), 86(5), 70(3), 57(100), 42(19).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,11 (t, J=7,3, 3H, CH₂CH₃), 2,81 (q, J=7,3, 2H, CH₂), 3,86 (s, 3H, CO₂CH₃), 4,08 (s, 3H, NOCH₃).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 7,20, 30,72, 52,44, 64,23, 149,57, 161,99, 196,14.

RMN-¹³C (DEPT): δ 7,20(+), 30,72(-), 52,46(+), 64,24(+).

• *(E)*-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, 27



MM : 173,17 g mol⁻¹.

IV (filme): 2983, 2945, 1751, 1731, 1710, 1599, 1440, 1332, 1285, 1244, 1208, 1168, 1092, 1050, 1020, 977, 935, 795 cm⁻¹.

AE: C₇H₁₁NO₄ calc. C(%) 48,56 H(%) 6,40 N(%) 8,09

C(%) 46,95 H(%) 6,53 N(%) 7,40

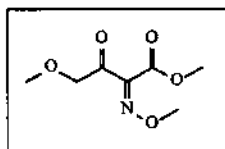
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 173(M⁺,3), 142(31), 116(16), 86(10), 70(2), 57(100), 42(49).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,14 (t, J=7,3, 3H, CH₂CH₃), 2,66 (q, J=7,3, 2H, CH₂), 3,87 (s, 3H, CO₂CH₃), 4,07 (s, 3H, NOCH₃).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 6,28, 35,89, 52,95, 64,19, 150,11, 161,03, 200,17.

RMN-¹³C (DEPT): δ 6,28(+), 35,89(-), 52,97(+), 64,20(+).

• *(Z)*-2-metoxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, 28



MM : 189,17 g mol⁻¹.

IV (filme): 3000, 2952, 2916, 2832, 1744, 1711, 1601, 1438, 1375, 1299, 1222, 1198, 1136, 1035, 982, 843, 781, 680 cm⁻¹.

AE: C₇H₁₁NO₅ calc. C(%) 44,45 H(%) 5,86 N(%) 7,40

C(%) 45,84 H(%) 6,05 N(%) 7,01

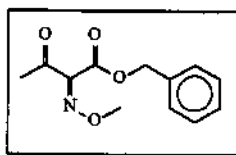
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 158(4), 130(9), 116(12), 102(9), 72(22), 59(36), 45(100).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 3,46 (s, 3H, CH₂OCH₃), 3,88 (s, 3H, CO₂CH₃), 4,10 (s, 3H, NOCH₃), 4,55 (s, 2H, CH₂).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 52,53, 59,29, 64,40, 73,28, 147,74, 160,36, 190,44

RMN-¹³C (DEPT): δ 59,52(+), 59,28(+), 64,39(+), 73,27(-).

• **(Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, 29**



MM : 235,24 g mol⁻¹.

IV (filme): 3066, 3033, 2944, 2888, 2825, 1746, 1693, 1599, 1498, 1455, 1365, 1309, 1225, 1078, 1036, 960, 917, 834, 754, 699, 583, 566 cm⁻¹.

AE: C₁₂H₁₃NO₄ calc. C(%) 61,27 H(%) 5,57 N(%) 5,95
C(%) 60,92 H(%) 5,59 N(%) 5,91

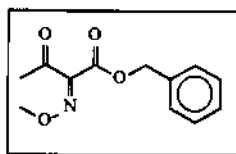
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 204(7), 144(2), 129(48), 117(3), 107(10), 91(82), 70(24), 65(47), 43(100).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 2,38 (s, 3H, COCH₃), 4,08 (s, 3H, NOCH₃), 5,31 (s, 2H, CH₂Ph), 7,36 (s, 5H, Ph).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 25,08, 64,32, 67,46, 128,15, 128,42, 128,49, 134,65, 149,72, 161,01, 192,65.

RMN-¹³C (DEPT): δ 25,07(+), 64,32(+), 67,45(-), 128,14(+), 128,42(+), 128,48(+)

• **(E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, 29**



MM : 235,24 g mol⁻¹.

IV (filme): 3071, 3042, 2953, 2830, 1746, 1725, 1725, 1712, 1597, 1493, 1459, 1385, 1350, 1311, 1276, 1222, 1089, 1030, 966, 926, 769, 754, 695, 576, 488 cm⁻¹.

AE: C₁₂H₁₃NO₄ calc. C(%) 61,27 H(%) 5,57 N(%) 5,95
C(%) 60,29 H(%) 5,58 N(%) 5,91

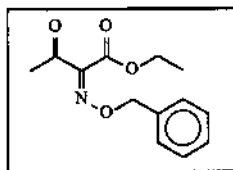
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 204(2), 129(13), 107(3), 91(47), 70(7), 65(14), 43(100).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 2,27 (s, 3H, COCH₃), 3,97 (s, 3H, NOCH₃), 5,21 (s, 2H, CH₂Ph), 7,27 (s, 5H, Ph).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 30,09, 64,27, 67,72, 128,32, 128,60, 134,58, 149,64, 159,88, 196,24.

RMN-¹³C (DEPT): δ 30,09(+), 64,27(+), 67,71(-), 128,32(+), 128,59(+).

• **(Z)-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, 30**



MM : 249,26 g mol⁻¹.

IV (filme): 2984, 2933, 1744, 1699, 1602, 1497, 1445, 1369, 1313, 1236, 1087, 1014, 921, 876, 857, 739, 699, 618, 591, 568 cm⁻¹.

AE: C₁₃H₁₅NO₄ calc. C(%) 62,64 H(%) 6,07 N(%) 5,62

C(%) 62,41 H(%) 5,85 N(%) 5,66

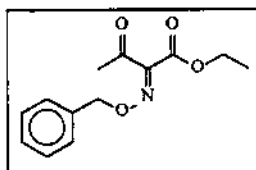
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 204(2), 176(1), 117(2), 105(9), 91(100), 77(45), 65(26), 43(60).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,31 (t, J=7,1, 3H, CH₂CH₃), 2,38 (s, 3H, COCH₃), 4,35 (q, J=7,1, 2H, CH₂CH₃), 5,32 (s, 2H, CH₂Ph), 7,37 (s, 5H, Ph).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 13,72, 24,95, 61,94, 78,53, 128,29, 128,61, 128,70, 136,05, 150,74, 161,41, 193,24.

RMN-¹³C (DEPT): δ 13,72(+), 24,94(+), 61,91(-), 78,48(-), 128,22(+), 128,54(+), 128,63(+).

• **(E)-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, 30**



MM : 249,26 g mol⁻¹.

IV (filme): 2984, 2933, 1746, 1725, 1711, 1600, 1497, 1455, 1371, 1320, 1277, 1223, 1097, 1016, 961, 859, 773, 698, 617 cm⁻¹.

AE: C₁₃H₁₅NO₄ calc. C(%) 62,64 H(%) 6,07 N(%) 5,62

C(%) 62,73 H(%) 5,96 N(%) 5,81

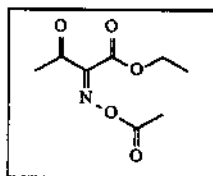
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 204(1), 105(5), 91(100), 77(19), 65(12), 43(49).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,32 (t, J=7,1, 3H, CH₂CH₃), 2,35 (s, 3H, COCH₃), 4,32 (q, J=7,1, 2H, CH₂CH₃), 5,30 (s, 2H, CH₂Ph), 7,35 (s, 5H, Ph).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 13,67, 29,78, 62,25, 78,67, 128,44, 128,65, 128,69, 135,78, 150,57, 160,31, 196,81.

RMN-¹³C (DEPT): δ 13,73(+), 29,84(+), 62,30(-), 78,69(-), 128,44(+), 128,65(+), 128,69(+).

• *(Z)*-2-acetoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, 31



MM : 201,18 g mol⁻¹ (C₈H₁₁NO₅).

IV (filme): 2990, 2945, 1802, 1748, 1709, 1621, 1424, 1365, 1307, 1238, 1174, 1066, 1002, 929, 835, 580, 546 cm⁻¹.

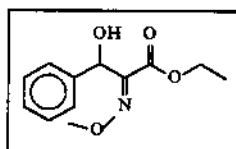
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 159(21), 131(7), 113(6), 84(2), 54(9), 43(100).

RMN-¹H (80MHz, CDCl₃/TMS): δ 1,3 (t, J=7,1, 3H, CH₂CH₃), 2,2 (s, 3H, NOCOCH₃), 2,5 (s, 3H, COCH₃), 4,4 (q, J=7,1, 2H, CH₂).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃/TMS): δ 14,03, 19,19, 25,85, 62,77, 153,66, 159,64, 166,31, 192,80.

RMN-¹³C (DEPT): δ 14,03(+), 19,19(+), 25,85(+), 62,77(-).

• 3-hidróxi-(*E*)-2-metoxilimino-3-fenil-propionato de etila, 33



MM : 237,25 g mol⁻¹.

IV (KBr): 3492, 2941, 2824, 1727, 1719, 1693, 1601, 1450, 1375, 1267, 1141, 1046, 930, 752, 699 cm⁻¹.

AE: C₁₂H₁₅NO₄ calc. C(%) 60,75 H(%) 6,37 N(%) 5,90

C(%) 59,61 H(%) 6,30 N(%) 5,81

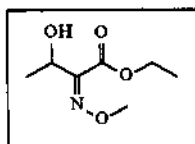
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 206(16), 192(2), 177(1), 162(2), 148(1), 132(21), 116(3), 107(100), 84(3).

RMN-¹H (300MHz, CCl₄/TMS): δ 1,35 (t, J=7,1, 3H, CH₃), 3,95 (d, J=11,8, 1H, CHOH), 4,08 (s, 3H, NOCH₃), 4,24 (q, J=7,1, 2H, CH₂CH₃), 5,96 (d, J=11,8, 1H, CHOH), 7,29 (s, 5H, Ph).

RMN-¹³C (75MHz, CCl₄/TMS): δ 13,86, 60,98, 62,98, 67,26, 125,23, 127,13, 127,99, 139,93, 150,81, 162,77.

RMN-¹³C (DEPT): δ 13,86(+), 60,98(-), 62,98(+), 67,26(+), 125,23(+), 127,13(+), 127,99(+).

• **3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de etila, 34**



MM : 175,18 g mol⁻¹.

IV (filme): 3424, 2983, 2940, 2822, 1731, 1633, 1446, 1370, 1301, 1201, 1177, 1045, 885, 863 cm⁻¹.

AE: C₇H₁₃NO₄ calc. C(%) 47,99 H(%) 7,48 N(%) 8,00

C(%) 47,13 H(%) 7,45 N(%) 7,63

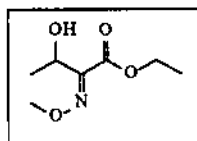
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 160(9), 132(41), 114(4), 102(36), 86(27), 58(68), 45(100), 29(23).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,35 (t, J=7,1, 3H, CH₂CH₃), 1,42 (d, J=6,6, 3H, CHOHCH₃), 3,90 (s, 3H, NOCH₃), 4,34 (q, J=7,1, 2H, CH₂), 4,59 (q, J=6,6, 1H, CHOH).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 14,20, 20,85, 62,05, 62,95, 66,93, 153,97, 163,20.

RMN-¹³C (DEPT): δ 14,20(+), 20,85(+), 62,06(-), 62,93(+), 66,94(+).

• **3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de etila, 34**



MM : 175,18 g mol⁻¹.

IV (filme): 3468, 2982, 2941, 2822, 1727, 1448, 1374, 1332, 1307, 1173, 1096, 1045, 904, 781 cm⁻¹.

AE: C₇H₁₃NO₄ calc. C(%) 47,99 H(%) 7,48 N(%) 8,00

C(%) 47,64 H(%) 7,22 N(%) 7,43

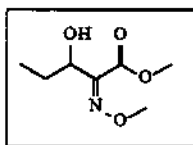
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 160(7), 144(14), 132(19), 102(7), 86(9), 72(5), 58(20), 45(100).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,36 (t, J=7,1, 3H, CH₂CH₃), 1,43 (d, J=7,1, 3H, CHOHCH₃), 3,47 (d, J=11,0, 1H, OH), 4,05 (s, 3H, NOCH₃), 4,28-4,43 (m, 2H, CH₂), 4,99-5,07 (m, 1H, CHOH).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 13,83, 20,97, 61,96, 63,42, 63,52, 153,78, 163,45.

RMN-¹³C (DEPT): δ 13,83(+), 20,97(+), 61,96(-), 63,42(+), 63,52(+).

• *3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, 35*



MM : 175,18 g mol⁻¹.

IV (filme): 3443, 2942, 2888, 2822, 1738, 1628, 1461, 1437, 1377, 1309, 1205, 1162, 1093, 1035, 976, 922, 873, 839 cm⁻¹.

AE: C₇H₁₃NO₄ calc. C(%) 47,99 H(%) 7,48 N(%) 8,00
C(%) 46,48 H(%) 6,80 N(%) 7,29

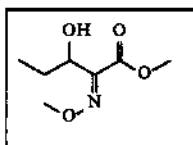
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 146(31), 131(2), 116(10), 99(2), 86(35), 71(3), 59(100), 42(52).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 0,98 (t, J=7,3, 3H, CH₂CH₃), 1,62-1,81 (m, 2H, CH₂), 2,59 (l, 1H, CHOH), 3,85 (s, 3H, CO₂CH₃), 3,91 (s, 3H, NOCH₃), 4,35 (l, 1H, CHOH).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 8,91, 27,42, 52,23, 62,74, 71,72, 152,46, 163,15.

RMN-¹³C (DEPT): δ 8,91(+), 27,39(-), 52,02(+), 62,52(+), 71,52(+).

• *3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, 35*



MM : 175,18 g mol⁻¹.

IV (filme): 3460, 2970, 2877, 2822, 1732, 1602, 1461, 1440, 1340, 1273, 1200, 1153, 1082, 1044, 979, 915, 827, 784 cm⁻¹.

AE: C₇H₁₃NO₄ calc. C(%) 47,99 H(%) 7,48 N(%) 8,00
C(%) 47,19 H(%) 7,42 N(%) 7,81

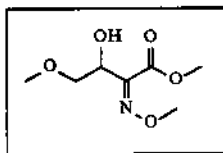
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 146(37), 126(1), 114(12), 98(2), 86(28), 68(3), 59(100), 42(46).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 0,98 (t, J=7,3, 3H, CH₂CH₃), 1,65-1,84 (m, 2H, CH₂), 3,31 (d, J=11,7, 1H, CHOH), 3,87 (s, 3H, CO₂CH₃), 4,05 (s, 3H, NOCH₃), 4,79-4,87 (m, 1H, CHOH).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 9,55, 28,10, 52,66, 63,57, 68,53, 152,84, 164,04.

RMN-¹³C (DEPT): δ 9,79(+), 28,32(-), 52,71(+), 63,61(+), 68,60(+).

• **3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-butanoato de metila, 36**



MM : 191,18 g mol⁻¹.

IV (filme): 3442, 2942, 2900, 2825, 1736, 1628, 1437, 1308, 1203, 1158, 1122, 1039, 960, 888, 842, 624, 546 cm⁻¹.

AE: C₇H₁₃NO₅ calc. C(%) 43,98 H(%) 6,85 N(%) 7,33
C(%) 42,39 H(%) 7,02 N(%) 6,28

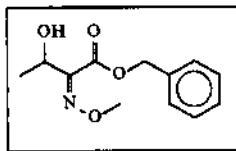
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 162(3), 146(10), 128(29), 114(5), 99(10), 86(27), 75(13), 58(62), 45(100).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 3,04 (d, J=5,1, 1H, OH), 3,41 (s, 3H, CH₂OCH₃), 3,62 (d, J=5,1, 2H, CH₂), 3,86 (s, 3H, CO₂CH₃), 3,93 (s, 3H, NOCH₃), 4,61 (dt, J₁=5,1, J₂=5,5, 1H, CHOH).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 52,27, 59,12, 62,87, 69,31, 73,79, 150,07, 162,78.

RMN-¹³C (DEPT): δ 52,27(+), 59,12(+), 62,87(+), 69,30(+), 73,79(-).

• **3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, 37**



MM : 237,25 g mol⁻¹.

IV (filme): 3423, 2981, 2940, 2811, 1735, 1629, 1498, 1457, 1376, 1289, 1197, 1165, 1100, 1044, 911, 868, 751, 698 cm⁻¹.

AE: C₁₂H₁₅NO₄ calc. C(%) 60,75 H(%) 6,37 N(%) 5,90
C(%) 58,08 H(%) 6,47 N(%) 5,96

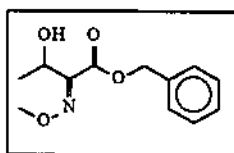
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 219(1), 194(1), 162(1), 131(5), 113(28), 107(9), 91(100), 77(14), 58(52), 45(66).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,38 (d, J=6,6, 3H, CH₃), 2,57(d, J=5,1, 1H, OH), 3,90 (s, 3H, NOCH₃), 4,60 (dq, J₁=6,6, J₂=5,9, 1H, CHOH), 5,31 (s, 2H, CH₂Ph), 7,38 (s, 5H, Ph).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 20,85, 63,04, 67,02, 67,53, 128,79, 129,04, 129,11, 135,40, 153,28, 162,86.

RMN-¹³C (DEPT): δ 20,84(+), 63,03(+), 67,01(+), 67,53(-), 128,78(+), 129,03(+), 129,10(+).

• **3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, 37**



MM : 237,25 g mol⁻¹.

IV (filme): 3448, 2980, 2941, 2822, 1718, 1602, 1498, 1456, 1387, 1332, 1306, 1188, 1159, 1095, 1044, 940, 907, 778, 752, 698 cm⁻¹.

AE: C₁₂H₁₅NO₄ calc. C(%) 60,75 H(%) 6,37 N(%) 5,90
C(%) 60,57 H(%) 6,46 N(%) 5,60

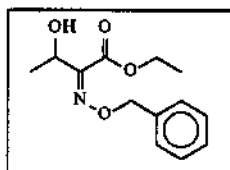
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 206(4), 162(3), 146(1), 131(34), 113(32), 107(38), 91(100), 77(23), 65(48), 45(48).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,43 (d, J=6,8, 3H, CH₂CH₃), 3,38 (d, J=11,4, 1H, OH), 4,05 (s, 3H, NOCH₃), 5,04 (dq, J₁=6,8, J₂=11,4, 1H, CHOH), 5,31 (dt, J₁=12,4, J₂=8,3, 2H, CH₂Ph), 7,27-7,41 (m, 5H, Ph).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 21,17, 63,51, 63,66, 67,36, 128,32, 128,49, 128,61, 135,00, 153,31, 162,96.

RMN-¹³C (DEPT): δ 21,24(+), 63,68(+), 63,82(+), 67,52(-), 128,62(+), 128,79(+), 128,91(+).

• **3-hidróxi-(Z)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, 38**



MM : 251,28 g mol⁻¹.

IV (filme): 3447, 3090, 3065, 3033, 2984, 2934, 2880, 1733, 1631, 1498, 1456, 1369, 1302, 1185, 1100, 1079, 1016, 945, 897, 864, 741, 698 cm⁻¹.

AE: C₁₃H₁₇NO₄ calc. C(%) 62,14 H(%) 6,82 N(%) 5,57
C(%) 61,30 H(%) 6,85 N(%) 5,46

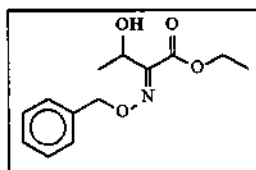
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 207(1), 175(1), 160(3), 143(5), 134(1), 115(3), 105(4), 91(100), 77(26), 65(24), 45(34).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,32 (t, J=7,1, 3H, CH₂CH₃), 1,41 (d, J=6,6, 3H, CHOHCH₃), 2,53 (d, J=5,1, 1H, OH), 4,33 (q, J=7,1, 2H, CH₂CH₃), 4,59 (dq, J₁=6,6, J₂=5,1, 1H, CHOH), 5,14 (s, 2H, CH₂Ph), 7,33 (s, 5H, Ph).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 13,99, 20,63, 61,70, 66,73, 76,73, 127,90, 127,98, 128,43, 137,08, 153,80, 162,58.

RMN-¹³C (DEPT): δ 13,98(+), 20,62(+), 61,70(-), 66,72(+), 76,72(-), 127,90(+), 127,98(+), 128,43(+).

• **3-hidróxi-(E)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, 38**



MM : 251,28 g mol⁻¹.

IV (filme): 3519, 3091, 3067, 3033, 2983, 2935, 2882, 1722, 1603, 1495, 1455, 1398, 1375, 1332, 1305, 1177, 1095, 1025, 992, 901, 864, 780, 698 cm⁻¹.

AE: C₁₃H₁₇NO₄ calc. C(%) 62,14 H(%) 6,82 N(%) 5,57

C(%) 61,68 H(%) 6,76 N(%) 5,52

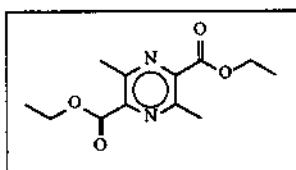
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 206(1), 175(1), 160(1), 143(7), 131(1), 115(3), 107(6), 91(100), 77(48), 65(43), 45(55).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,36 (t, J=7,0, 3H, CH₂CH₃), 1,43 (d, J=6,6, 3H, CHOHCH₃), 3,45 (d, J=11,3, 1H, OH), 4,26-4,41 (m, 2H, CH₂CH₃), 5,02-5,13 (m, 1H, CHOH), 5,28 (s, 2H, CH₂Ph), 7,36 (s, 5H, Ph).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 14,08, 21,20, 62,03, 63,67, 78,12, 128,28, 128,39, 128,53, 136,06, 153,85, 163,17.

RMN-¹³C (DEPT): δ 14,08(+), 21,20(+), 62,02(-), 63,66(+), 78,12(-), 128,29(+), 128,39(+), 128,54(+).

• **3,6-dimetil-pirazina-2,5-dicarboxilato de etila, 39**



MM : 252,26 g mol⁻¹

IV (filme): 2984, 2933, 1724, 1540, 1448, 1403, 1380, 1263, 1178, 1132, 1021, 860, 788, 737, 703, 569, 459 cm⁻¹.

AE: C₁₂H₁₆N₂O₄ calc. C(%) 57,13 H(%) 6,39 N(%) 11,10

C(%) 56,75 H(%) 6,40 N(%) 10,78

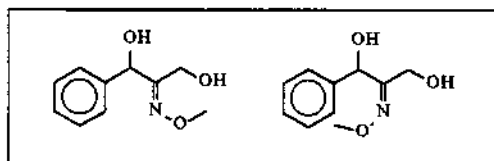
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 252(M⁺, 2), 208(16), 180(100), 151(9), 134(10), 106(17), 81(14), 43(21).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,44 (t, J=7,1, 3H, CH₃), 2,79 (s, 3H, OCH₂CH₃), 4,48 (q, J=7,1, 2H, OCH₂CH₃).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 14,14, 22,26, 62,37, 144,04, 150,74, 165,03.

RMN-¹³C (DEPT): δ 14,13(+), 22,26(+), 62,36(-).

- (E)- e (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-1,3-propanodióis, 42



MM : 195,22 g mol⁻¹.

IV (filme): 3386, 2940, 2901, 2820, 1631, 1602, 1495, 1453, 1190, 1176, 1042, 897, 861, 760, 702 cm⁻¹.

AE: C₁₀H₁₃NO₃ calc. C(%) 61,53 H(%) 6,71 N(%) 7,17
C(%) 60,53 H(%) 6,76 N(%) 7,07

EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 164(5), 145(6), 133(9), 117(10), 107(97), 91(5), 77(100), 58(17), 51(53).

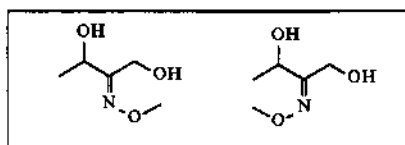
RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 2,77 (l, 1H, CH₂OH, *E*), 3,02 (l, 1H, CH₂OH, *Z*), 3,58-3,61 (l, 1H, CHOH, *E* e 1H, CHOH, *Z*), 3,85 (s, 3H, NOCH₃, *Z*), 3,93 (s, 3H, NOCH₃, *E*), 4,23 (dd, J₁=5,8, J₂=13,9, 2H, CH₂OH, *E*), 4,28 (ddd, J₁=5,1, J₂=14,3, J₃=53,1, 2H, CH₂OH, *Z*), 5,38 (d, J=5,5, 1H, CHOH, *E*), 5,98 (d, J=5,1, 1H, CHOH, *Z*), 7,26-7,41 (m, 5H, Ph, *E* e 5H, Ph, *Z*).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 57,20(*E*), 60,77(*Z*), 62,07(*Z*), 62,33(*E*), 69,36(*Z*), 73,52(*E*), 126,12, 126,34, 127,95, 128,06, 128,51, 128,61, 130,61, 139,64, 158,47(*Z*), 159,08(*E*).

RMN-¹³C (DEPT): δ 57,21(*E*,-), 60,77(*Z*,-), 62,08(*Z*,+), 62,34(*E*,+), 69,36(*Z*,+), 73,52(*E*,+), 126,12(+), 126,35(+), 127,96(+), 128,08(+), 128,52(+), 128,62(+).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃/D₂O): δ 3,82 (s, 3H, NOCH₃, *Z*), 3,90 (s, 3H, NOCH₃, *E*), 4,21 (d, J=3,3, 2H, CH₂OD, *E*), 4,25 (dd, J₁=14,3, J₂=54,9, 2H, CH₂OD, *Z*), 5,36 (s, 1H, CHOD, *E*), 5,97 (s, 1H, CHOD, *Z*), 7,21-7,40 (m, 5H, Ph, *E* e 5H, Ph, *Z*).

- **(E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-butanodióis, 43**



MM : 133,15 g mol⁻¹.

IV (filme): 3385, 2977, 2940, 2900, 2821, 1638, 1461, 1405, 1338, 1278, 1150, 1125, 1049, 878, 622 cm⁻¹.

AE: C₅H₁₁NO₃ calc. C(%) 45,10 H(%) 8,33 N(%) 10,52
C(%) 44,54 H(%) 8,84 N(%) 9,68

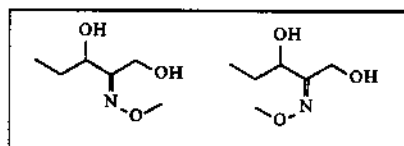
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 118(2), 102(8), 90(23), 72(14), 58(22), 45(100).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,37 (d, J=7,0, 3H, CH₃, *Z*), 1,39 (d, J=6,6, 3H, CH₃, *E*), 3,22 (l, 4H, OH), 3,84 (s, 3H, NOCH₃, *Z*), 3,85 (s, 3H, NOCH₃, *E*), 4,29 (d, J=5,5, 2H, CH₂OH, *Z*), 4,44 (s, 2H, CH₂OH, *E*), 4,51 (q, J=6,6, 1H, CHOH, *E*), 4,93 (q, J=7,0, 1H, CHOH, *Z*).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 20,14(*Z*), 20,53(*E*), 57,22(*E*), 60,69(*Z*), 61,90(*Z*), 61,94(*E*), 64,47(*Z*), 67,71(*E*), 160,95(*E*), 161,37(*Z*).

RMN-¹³C (DEPT): δ 20,13 (*Z*,+), 20,52 (*E*,+), 57,21 (*E*, -), 60,68 (*Z*, -), 61,90 (*Z*,+), 61,94 (*E*,+), 64,46 (*Z*,+), 67,70 (*E*,+).

- *(E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-pentanodióis, 44*



MM : 147,17 g mol⁻¹.

IV (filme): 3385, 2967, 2938, 2822, 1636, 1458, 1238, 1049, 979, 888, 869, 826 cm⁻¹.

AE: C₆H₁₃NO₃ calc. C(%) 48,97 H(%) 8,90 N(%) 9,52
C(%) 47,17 H(%) 8,83 N(%) 9,07

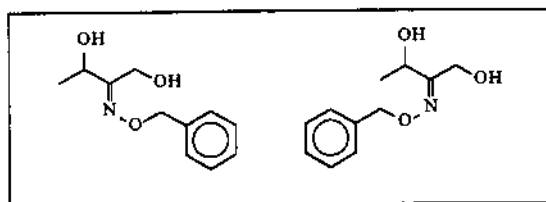
EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 118(31), 100(12), 90(16), 72(15), 59(100), 41(71).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 0,97 (t, J=7,3, 3H, CH₃, *E*), 1,00 (t, J=7,3, 3H, CH₃, *Z*), 1,64-1,84 (m, 2H, CH₂CH₃, *E* e 2H, CH₂CH₃, *Z*), 2,76-2,93 (ml, 4H, OH), 3,86 (s, 3H, NOCH₃, *Z*), 3,89 (s, 3H, NOCH₃, *E*), 4,23-4,29 (m, 1H, CHOH, *E*), 4,31 (dd, J₁=5,5, J₂=9,7, 2H, CH₂OH, *Z*), 4,41 (d, J=6,2, 2H, CH₂OH, *E*), 4,69-4,73 (m, 1H, CHOH, *Z*).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 9,29(*E*), 9,54(*Z*), 27,21(*Z*), 27,50(*E*), 57,36(*E*), 61,22(*Z*), 61,98(*Z*), 62,09(*E*), 69,81(*Z*), 73,09(*E*), 160,21(*E*), 160,48(*Z*).

RMN-¹³C (DEPT): δ 9,29 (*E*,+), 9,55 (*Z*,+), 27,21 (*Z*, -), 27,50 (*E*, -), 57,37 (*E*, -), 61,22 (*Z*, -), 61,98 (*Z*,+), 62,09 (*E*,+), 69,81 (*Z*,+), 73,10 (*E*,+).

• **(E)- e (Z)-2-benzoxilimino-1,3-butanodióis, 45**



MM : 209,24 g mol⁻¹.

IV (filme): 3385, 3089, 3062, 3029, 2978, 2929, 2872, 1633, 1495, 1454, 1367, 1210, 1110, 1075, 1019, 904, 750, 736, 696 cm⁻¹.

AE: C₁₁H₁₅NO₃ calc.C(%) 63,14 H(%) 7,23 N(%) 6,69
C(%) 61,43 H(%) 7,85 N(%) 6,38

EM (IE, 70eV) m/z (int.rel.): 191(12), 161(16), 143(3), 131(2), 117(2), 101(19), 91(100), 77(39), 65(36), 45(57).

RMN-¹H (300MHz, CDCl₃): δ 1,39 (d, J=7,0, 3H, CH₃, *Z*), 1,41 (d, J=6,6, 3H, CH₃, *E*), 2,72-2,90 (ml, 4H, OH), 4,33 (s, 2H, CH₂OH, *Z*), 4,48 (s, 2H, CH₂OH, *E*), 4,53 (q, J=6,6, 1H, CHOH, *E*), 4,98 (q, J=6,6, 1H, CHOH, *Z*), 5,01 (s, 2H, CH₂Ph, *E* e 2H, CH₂Ph, *Z*), 7,34 (s, 5H, Ph, *E* e 5H, Ph, *Z*).

RMN-¹³C (75MHz, CDCl₃): δ 20,33(*Z*), 20,73(*E*), 57,71(*E*), 60,91(*Z*), 64,84(*Z*), 67,84(*E*), 76,44(*Z*), 76,48(*E*), 128,09, 128,17, 128,27, 128,52, 128,54, 137,22(*Z*), 137,38(*E*), 161,20(*E*), 161,43(*Z*).

RMN-¹³C (DEPT): δ 20,33(*Z*,+), 20,72(*E*,+), 57,71(*E*, -), 60,91(*Z*, -), 64,83(*Z*,+), 67,84(*E*,+), 76,43(*Z*, -), 76,48(*E*, -), 128,17(+), 128,27(+), 128,52(+), 128,54(+).

Apêndice 2

Espectros

Índice dos Espectros:

Espectro IV: 2-bromo-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, 14	103
Espectro RMN- ¹ H: 2-bromo-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, 14	103
Espectro IV: 2-azido-fenil-3-oxo-propionato de etila, 15	103
Espectro IV: p-toluenossulfonil azida, 17	103
Espectro EM: 2-diazo-3-oxo-butanoato de etila, 19	103
Espectro IV: 2-diazo-3-oxo-butanoato de etila, 19	103
Espectro RMN- ¹ H: 2-diazo-3-oxo-butanoato de etila, 19	103
Espectro RMN- ¹³ C: 2-diazo-3-oxo-butanoato de etila, 19	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: 2-diazo-3-oxo-butanoato de etila, 19	103
Espectro EM: (Z)-2-hidroxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-20	103
Espectro IV: (Z)-2-hidroxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-20	103
Espectro RMN- ¹ H: (Z)-2-hidroxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-20	103
Espectro RMN- ¹³ C: (Z)-2-hidroxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-20	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (Z)-2-hidroxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-20	103
Espectro EM: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-21	103
Espectro IV: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-21	103
Espectro RMN- ¹ H: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-21	103
Espectro RMN- ¹³ C: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-21	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-21	103
Espectro EM: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-22	103
Espectro IV: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-22	103
Espectro RMN- ¹ H: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-22	103
Espectro RMN- ¹³ C: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-22	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-22	103
Espectro EM: (Z)-2-hidroxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-23	103
Espectro IV: (Z)-2-hidroxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-23	103
Espectro RMN- ¹ H: (Z)-2-hidroxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-23	103

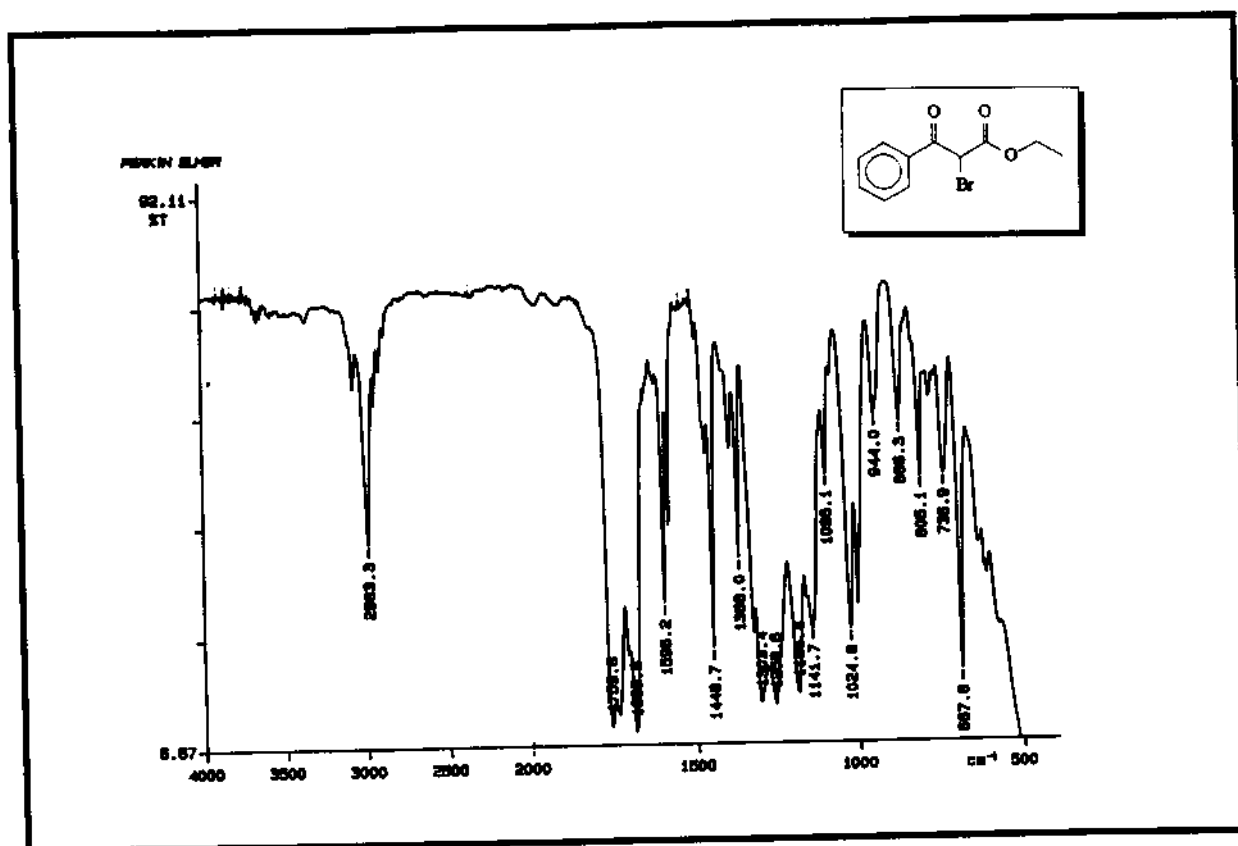
Espectro RMN- ¹³ C: (Z)-2-hidroxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-23	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (Z)-2-hidroxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-23	103
Espectro EM: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-24	103
Espectro IV: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-24	103
Espectro RMN- ¹ H: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-24	103
Espectro RMN- ¹³ C: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-24	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-24	103
Espectro EM: (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-25	103
Espectro IV: (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-25	103
Espectro RMN- ¹ H: (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-25	103
Espectro RMN- ¹³ C: (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-25	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-25	103
Espectro EM: (E)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (E)-25	103
Espectro IV: (E)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (E)-25	103
Espectro RMN- ¹ H: (E)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (E)-25	103
Espectro RMN- ¹³ C: (E)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (E)-25	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (E)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (E)-25	103
Espectro EM: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-26	103
Espectro IV: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-26	103
Espectro RMN- ¹ H: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-26	103
Espectro RMN- ¹³ C: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-26	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-26	103
Espectro EM: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-26	103
Espectro IV: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-26	103
Espectro RMN- ¹ H: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-26	103
Espectro RMN- ¹³ C: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-26	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-26	103
Espectro EM: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-27	103
Espectro IV: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-27	103
Espectro RMN- ¹ H: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-27	103
Espectro RMN- ¹³ C: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-27	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-27	103

Espectro EM: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (E)-27	103
Espectro IV: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (E)-27	103
Espectro RMN- ¹ H: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (E)-27	103
Espectro RMN- ¹³ C: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (E)-27	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (E)-27	103
Espectro EM: (Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-28	103
Espectro IV: (Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-28	103
Espectro RMN- ¹ H: (Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-28	103
Espectro RMN- ¹³ C: (Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-28	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-28	103
Espectro EM: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-29	103
Espectro IV: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-29	103
Espectro RMN- ¹ H: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-29	103
Espectro RMN- ¹³ C: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-29	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-29	103
Espectro EM: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (E)-29	103
Espectro IV: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (E)-29	103
Espectro RMN- ¹ H: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (E)-29	103
Espectro RMN- ¹³ C: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (E)-29	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (E)-29	103
Espectro EM: (Z)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-30	103
Espectro IV: (Z)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-30	103
Espectro RMN- ¹ H: (Z)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-30	103
Espectro RMN- ¹³ C: (Z)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-30	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (Z)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-30	103
Espectro EM: (E)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-30	103
Espectro IV: (E)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-30	103
Espectro RMN- ¹ H: (E)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-30	103
Espectro RMN- ¹³ C: (E)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-30	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (E)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-30	103
Espectro EM: (Z)-2-acetoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-31	103
Espectro IV: (Z)-2-acetoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-31	103

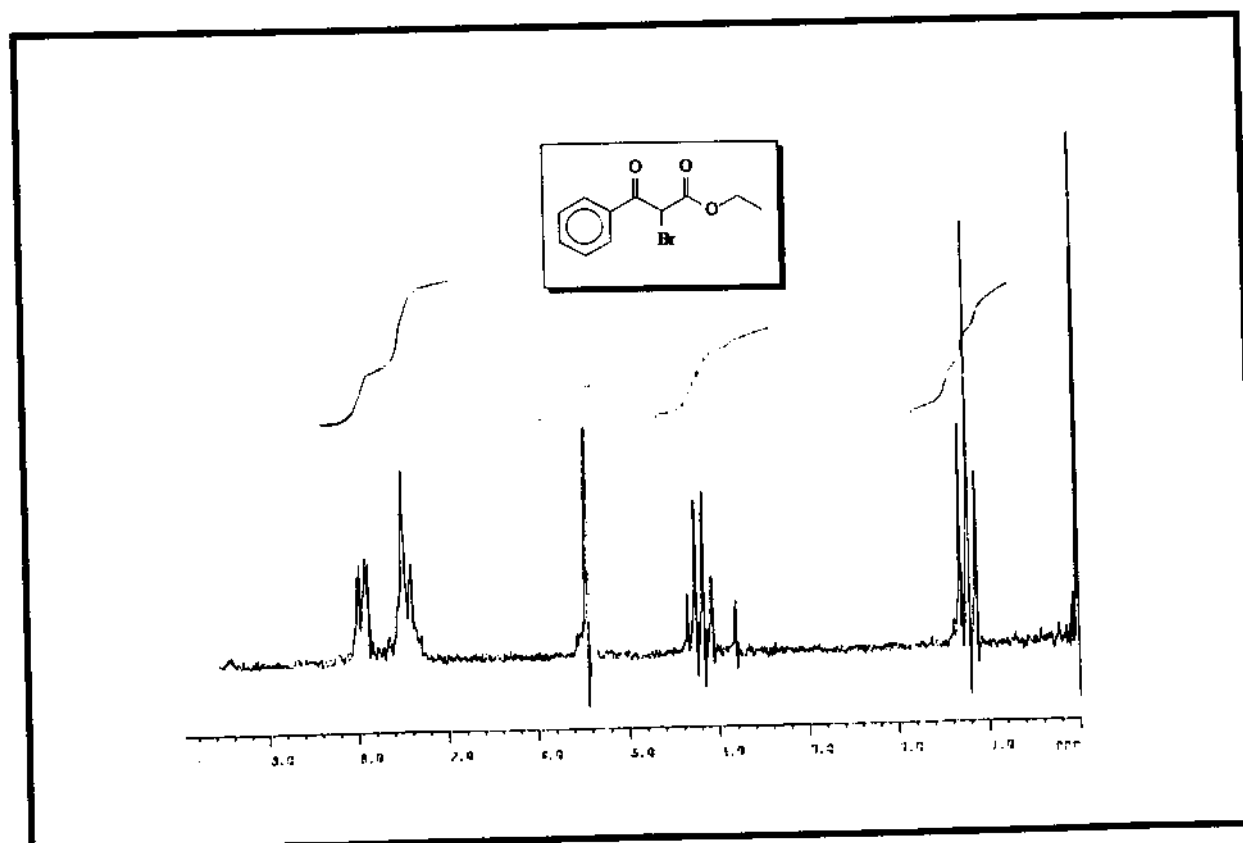
Espectro RMN- ¹ H: (Z)-2-acetoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-31.....	103
Espectro RMN- ¹³ C: (Z)-2-acetoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-31.....	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: (Z)-2-acetoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-31.....	103
Espectro EM: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-3-fenil-propionato de etila, (E)-33.....	103
Espectro IV: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-3-fenil-propionato de etila, (E)-33.....	103
Espectro RMN- ¹ H: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-3-fenil-propionato de etila, (E)-33.....	103
Espectro RMN- ¹³ C: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-3-fenil-propionato de etila, (E)-33.....	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-3-fenil-propionato de etila, (E)-33.....	103
Espectro EM: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (Z)-34.....	103
Espectro IV: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (Z)-34.....	103
Espectro RMN- ¹ H: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (Z)-34.....	103
Espectro RMN- ¹³ C: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (Z)-34.....	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (Z)-34.....	103
Espectro EM: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (E)-34.....	103
Espectro IV: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (E)-34.....	103
Espectro RMN- ¹ H: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (E)-34.....	103
Espectro RMN- ¹³ C: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (E)-34.....	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (E)-34.....	103
Espectro EM: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (Z)-35.....	103
Espectro IV: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (Z)-35.....	103
Espectro RMN- ¹ H: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (Z)-35.....	103
Espectro RMN- ¹³ C: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (Z)-35.....	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (Z)-35.....	103
Espectro EM: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (E)-35.....	103
Espectro IV: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (E)-35.....	103
Espectro RMN- ¹ H: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (E)-35.....	103
Espectro RMN- ¹³ C: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (E)-35.....	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (E)-35.....	103
Espectro EM: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-butanoato de metila, (Z)-36.....	103
Espectro IV: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-butanoato de metila, (Z)-36.....	103
Espectro RMN- ¹ H: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-butanoato de metila, (Z)-36.....	103
Espectro RMN- ¹³ C: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-butanoato de metila, (Z)-36.....	103

Espectro RMN- ¹³ C DEPT: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-butanoato de metila, (Z)-36	103
Espectro EM: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (Z)-37	103
Espectro IV: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (Z)-37	103
Espectro RMN- ¹ H: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (Z)-37	103
Espectro RMN- ¹³ C: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (Z)-37	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (Z)-37	103
Espectro EM: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (E)-37	103
Espectro IV: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (E)-37	103
Espectro RMN- ¹ H: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (E)-37	103
Espectro RMN- ¹³ C: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (E)-37	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (E)-37	103
Espectro EM: 3-hidróxi-(Z)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (Z)-38	103
Espectro IV: 3-hidróxi-(Z)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (Z)-38	103
Espectro RMN- ¹ H: 3-hidróxi-(Z)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (Z)-38	103
Espectro RMN- ¹³ C: 3-hidróxi-(Z)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (Z)-38	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: 3-hidróxi-(Z)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (Z)-38	103
Espectro EM: 3-hidróxi-(E)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (E)-38	103
Espectro IV: 3-hidróxi-(E)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (E)-38	103
Espectro RMN- ¹ H: 3-hidróxi-(E)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (E)-38	103
Espectro RMN- ¹³ C: 3-hidróxi-(E)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (E)-38	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: 3-hidróxi-(E)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (E)-38	103
Espectro EM: 3,6-dimetil-pirazina-2,5-dicarboxilato de etila, 39	103
Espectro IV: 3,6-dimetil-pirazina-2,5-dicarboxilato de etila, 39	103
Espectro RMN- ¹ H: 3,6-dimetil-pirazina-2,5-dicarboxilato de etila, 39	103
Espectro RMN- ¹³ C: 3,6-dimetil-pirazina-2,5-dicarboxilato de etila, 39	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: 3,6-dimetil-pirazina-2,5-dicarboxilato de etila, 39	103
Espectro EM: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-1,3-propanodióis, 42	103
Espectro IV: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-1,3-propanodióis, 42	103
Espectro RMN- ¹ H: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-1,3-propanodióis, 42	103
Espectro RMN- ¹ H (D ₂ O): mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-1,3-propanodióis, 42	103
Espectro RMN- ¹³ C: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-1,3-propanodióis, 42	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-1,3-propanodióis, 42	103

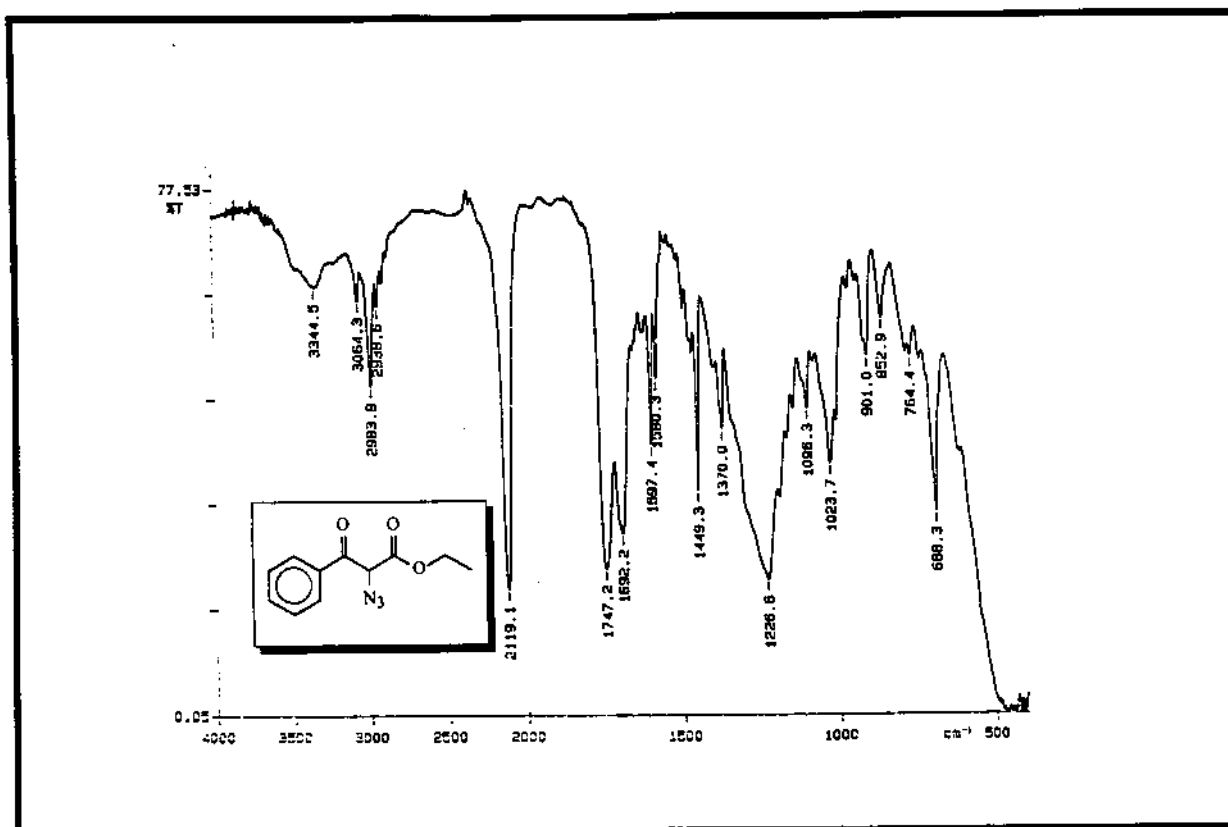
Espectro EM: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-butanodióis, 43	103
Espectro IV: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-butanodióis, 43	103
Espectro RMN- ¹ H: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-butanodióis, 43	103
Espectro RMN- ¹³ C: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-butanodióis, 43	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-butanodióis, 43	103
Espectro EM: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-pentanodióis, 44	103
Espectro IV: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-pentanodióis, 44	103
Espectro RMN- ¹ H: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-pentanodióis, 44	103
Espectro RMN- ¹³ C: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-pentanodióis, 44	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-pentanodióis, 44	103
Espectro EM: mistura (E)- e (Z)-2-benzoxilimino-1,3-butanodióis, 45	103
Espectro IV: mistura (E)- e (Z)-2-benzoxilimino-1,3-butanodióis, 45	103
Espectro RMN- ¹ H: mistura (E)- e (Z)-2-benzoxilimino-1,3-butanodióis, 45	103
Espectro RMN- ¹³ C: mistura (E)- e (Z)-2-benzoxilimino-1,3-butanodióis, 45	103
Espectro RMN- ¹³ C DEPT: mistura (E)- e (Z)-2-benzoxilimino-1,3-butanodióis, 45	103



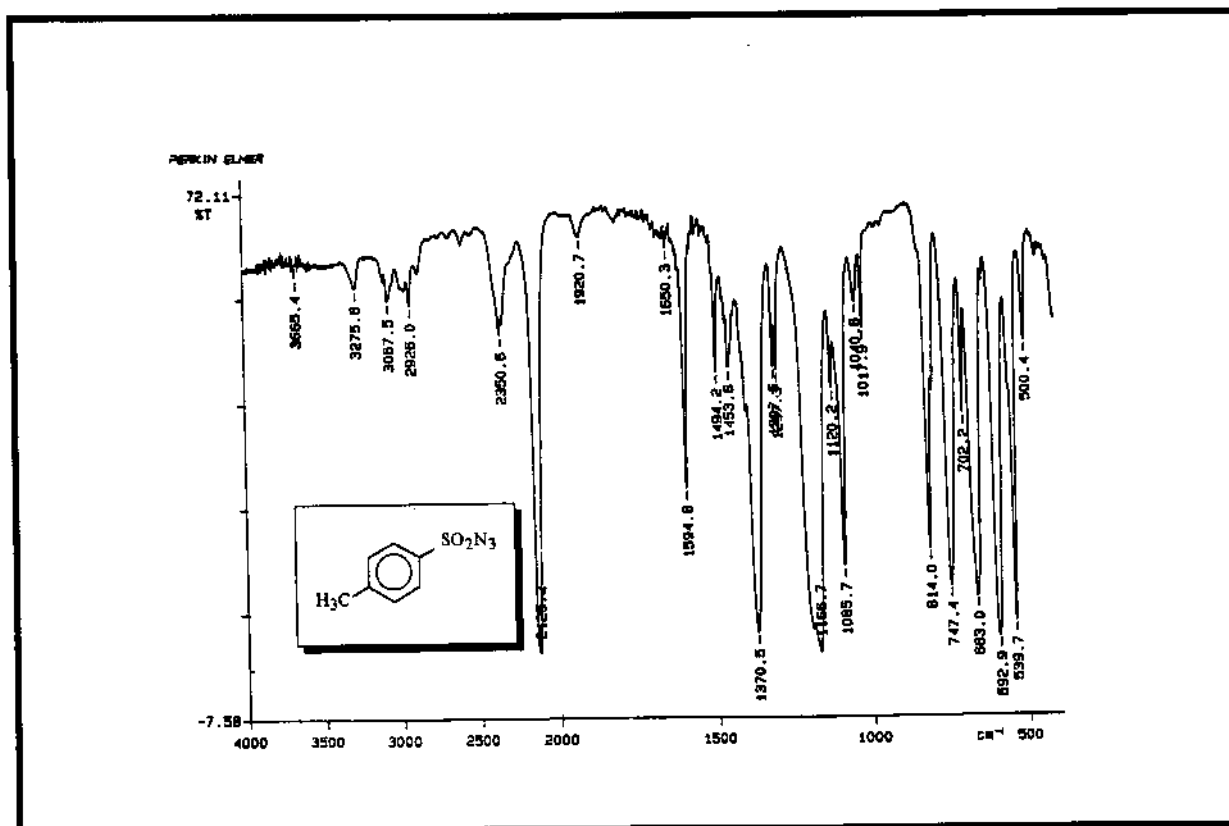
Espectro IV: 2-bromo-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, 14



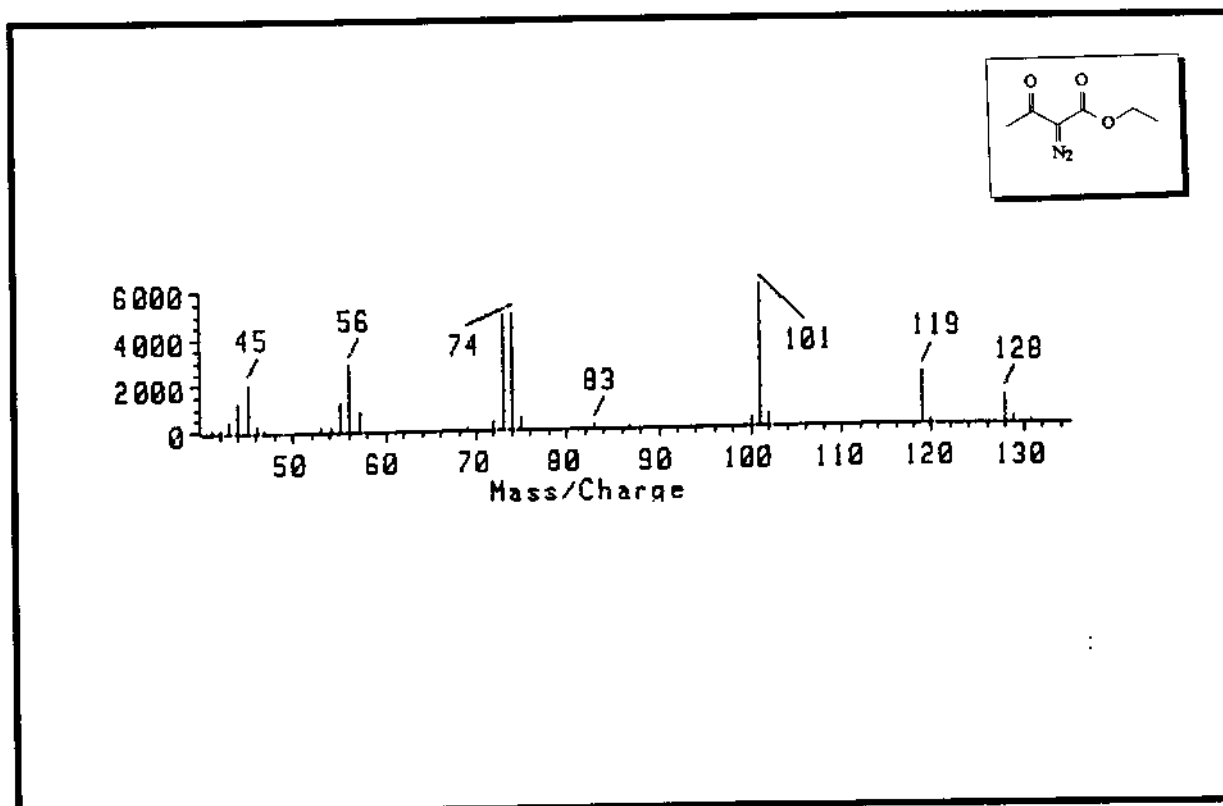
Espectro RMN-¹H: 2-bromo-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, 14



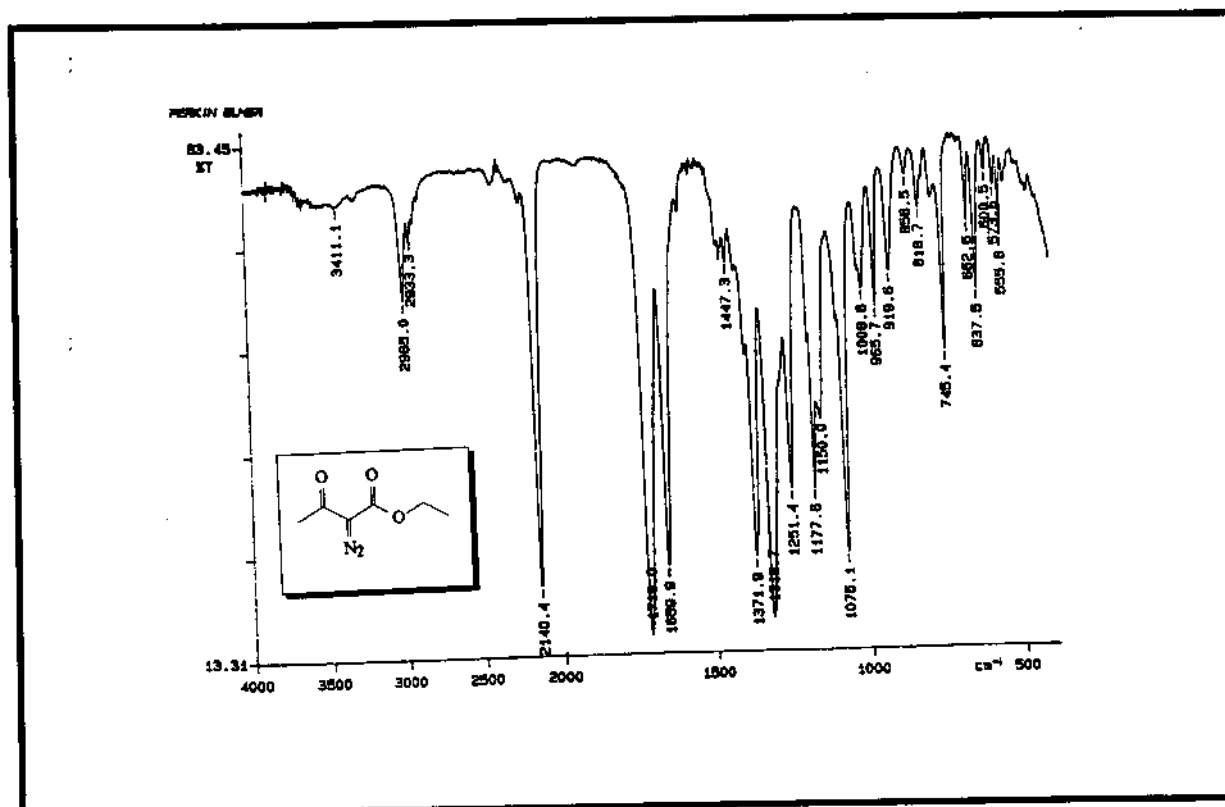
Espectro IV: 2-azido-fenil-3-oxo-propionato de etila, 15



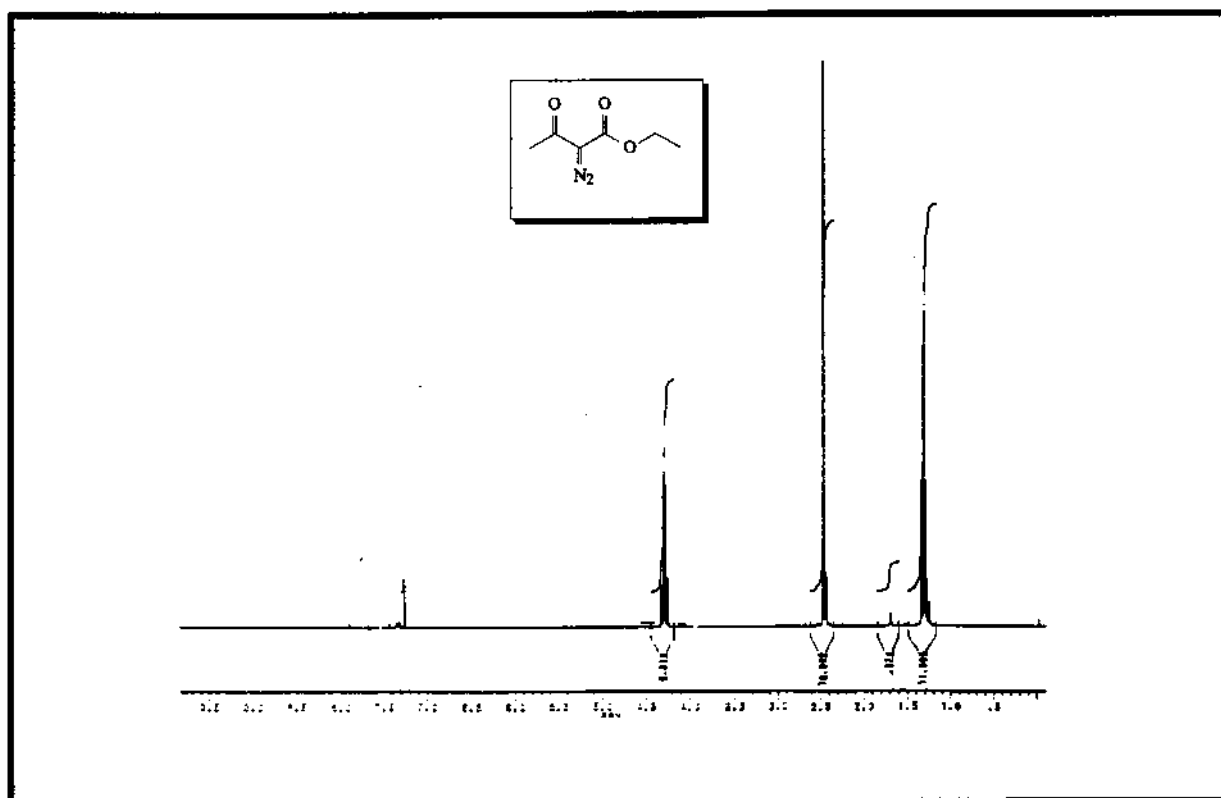
Espectro IV: p-toluenossulfonil azida, 17



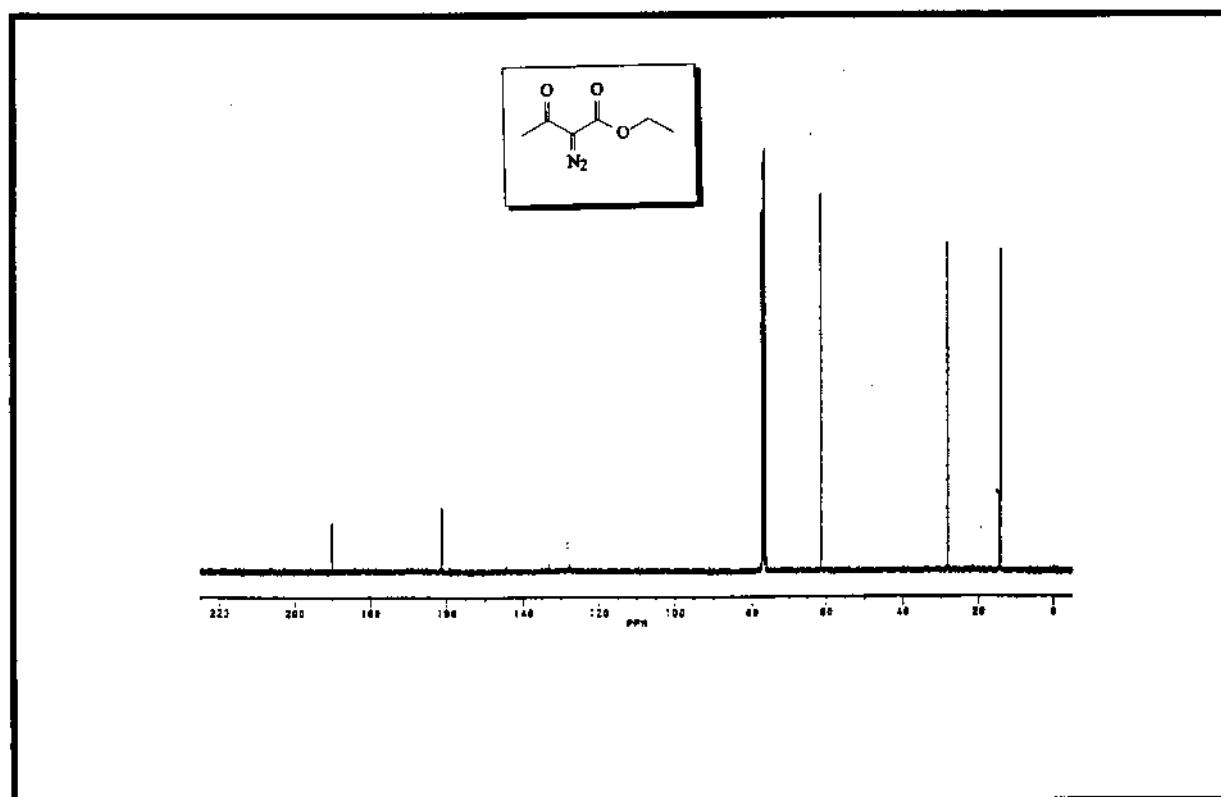
Espectro EM: 2-diazo-3-oxo-butanoato de etila, 19



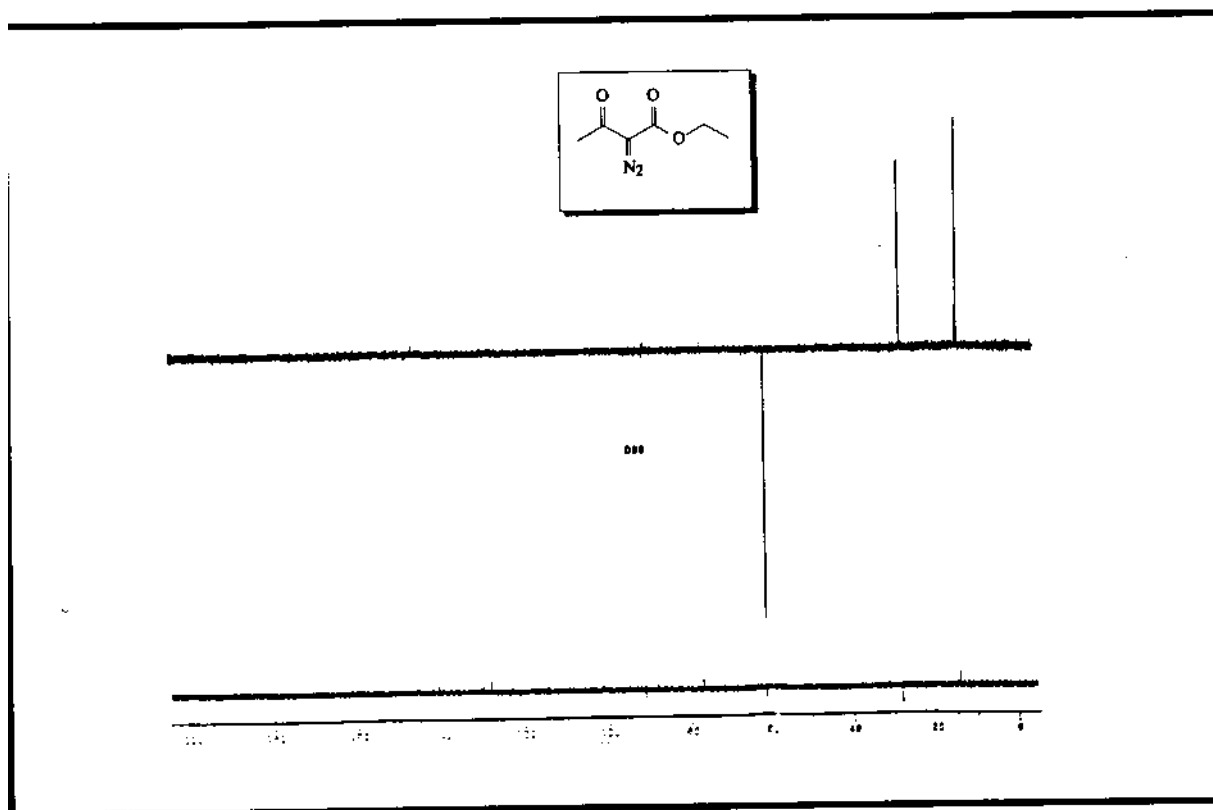
Espectro IV: 2-diazo-3-oxo-butanoato de etila, 19



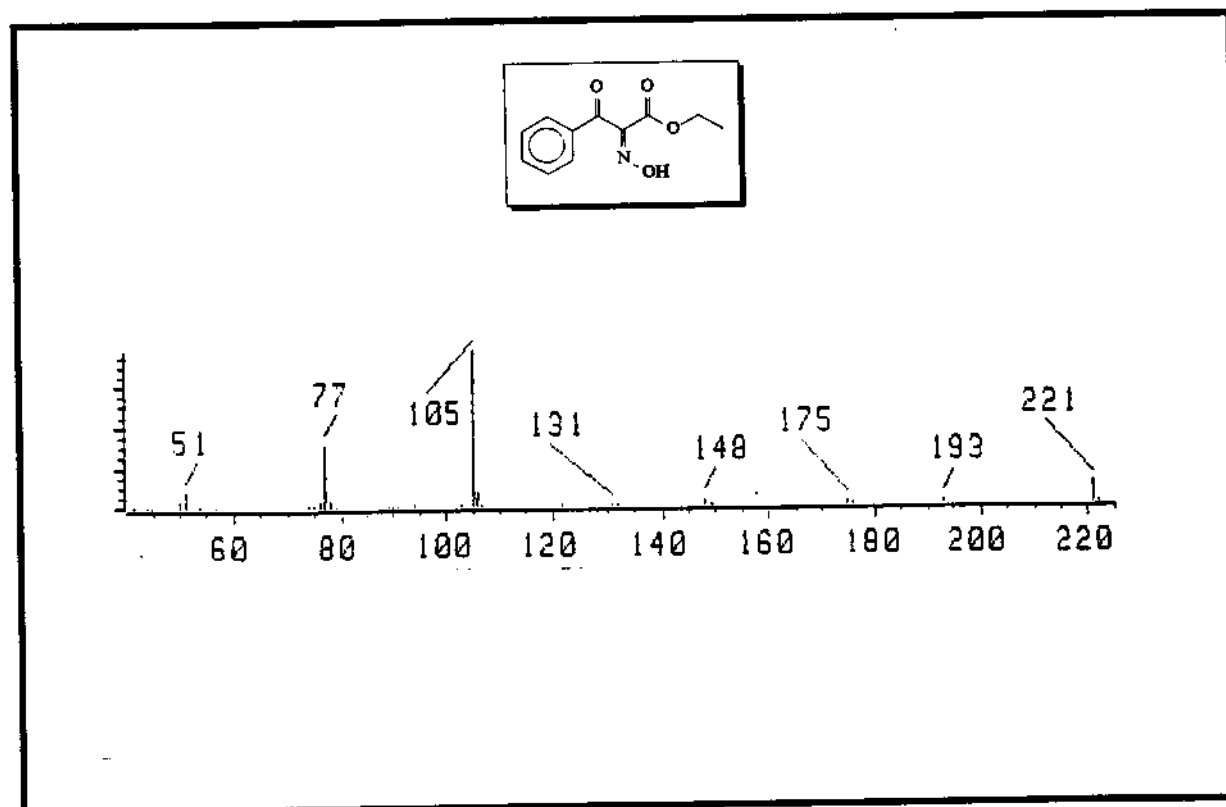
Espectro RMN- ^1H : 2-diazo-3-oxo-butanoato de etila, 19



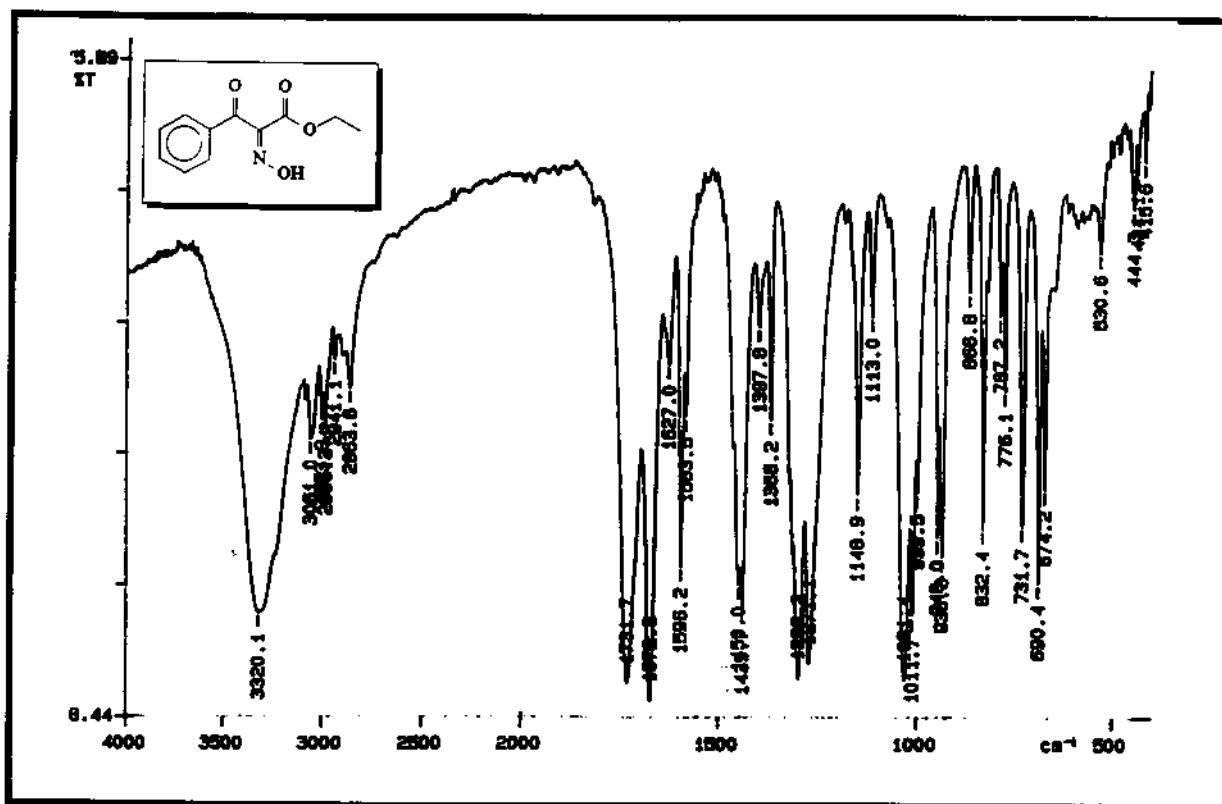
Espectro RMN- ^{13}C : 2-diazo-3-oxo-butanoato de etila, 19



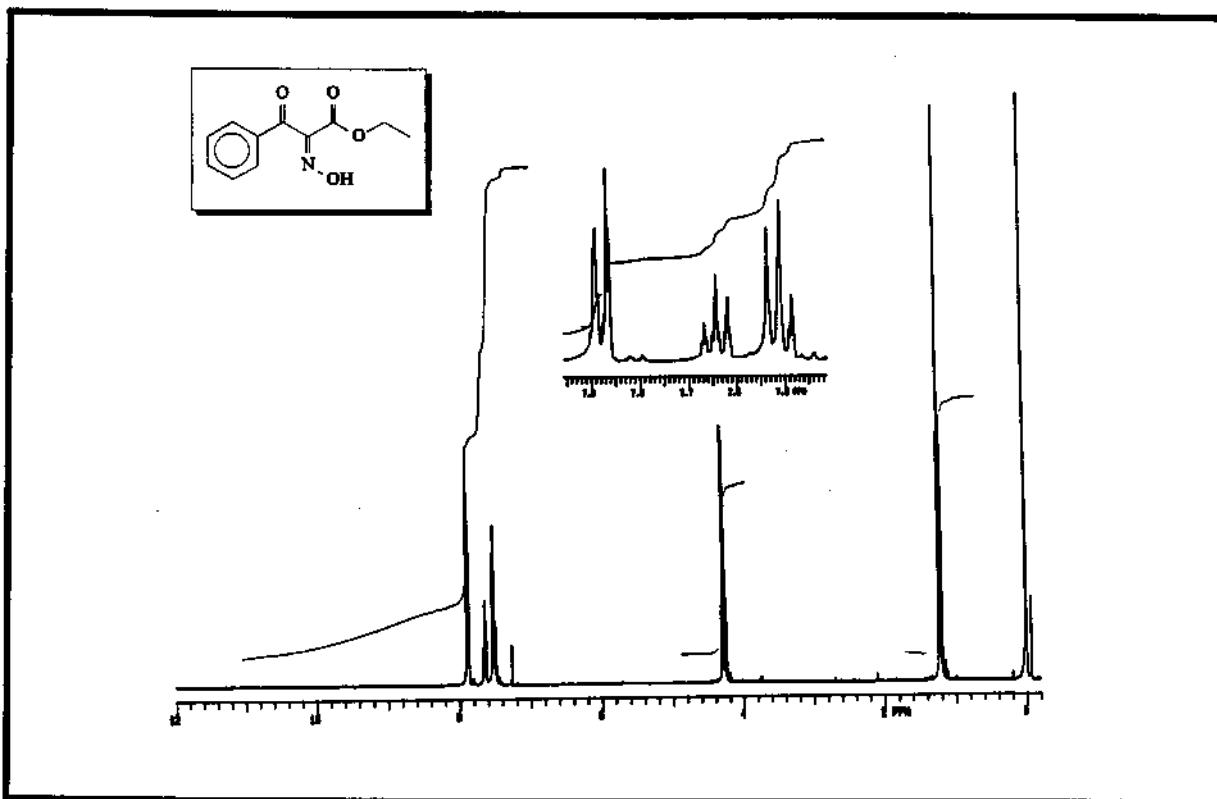
Espectro RMN-¹³C DEPT: 2-diazo-3-oxo-butanoato de etila, 19



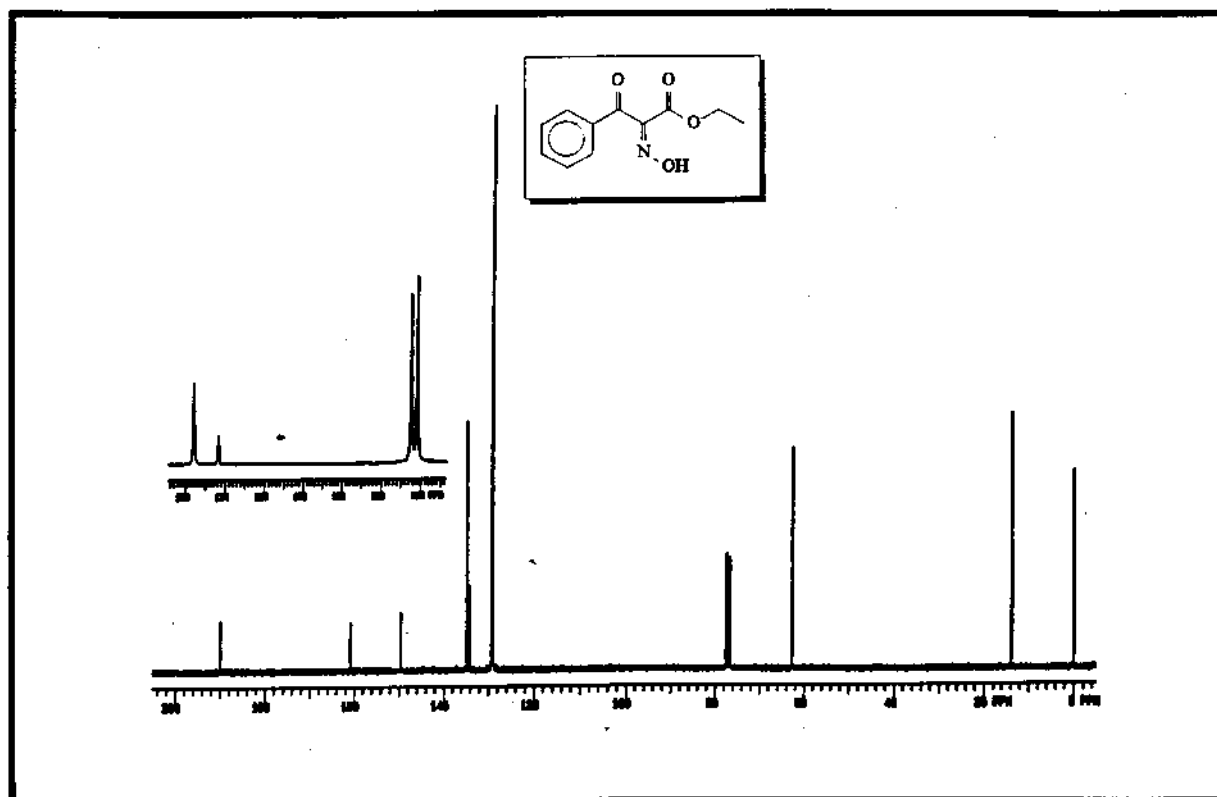
Espectro EM: (Z)-2-hidroxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-20



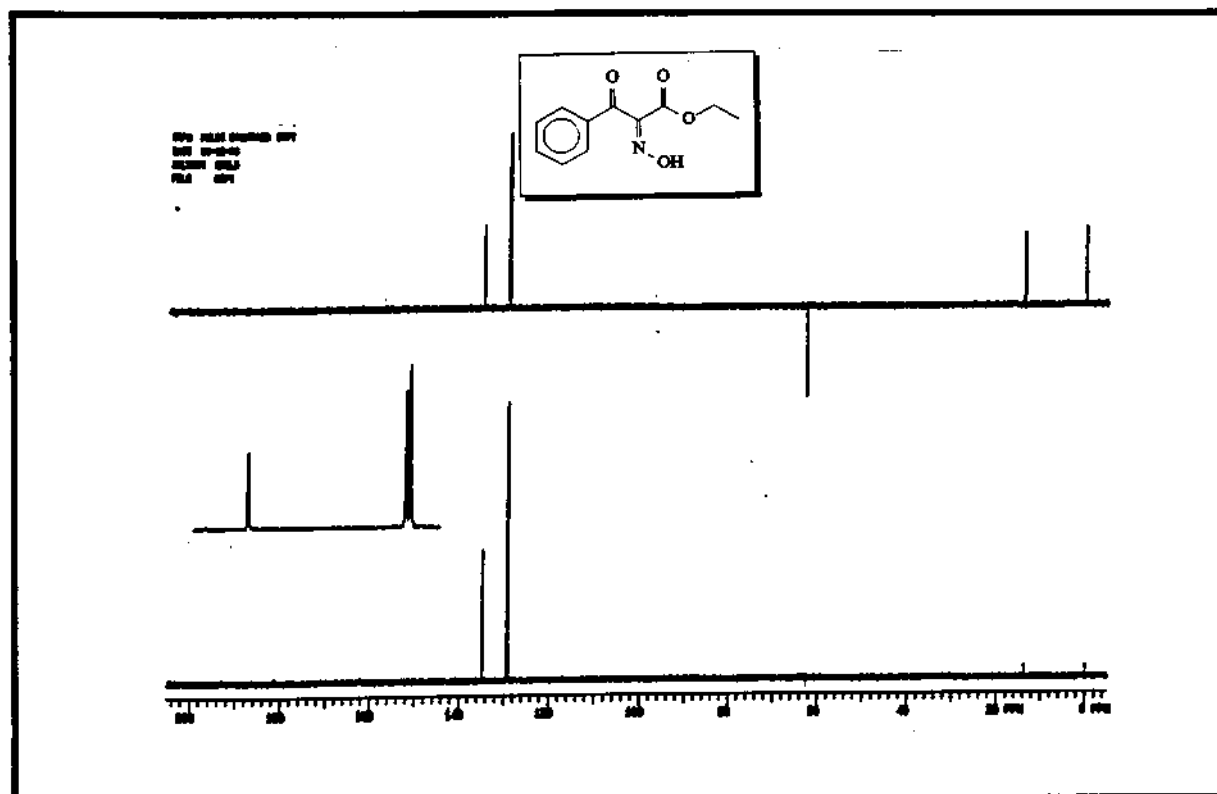
Espectro IV: (Z)-2-hidroxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-20



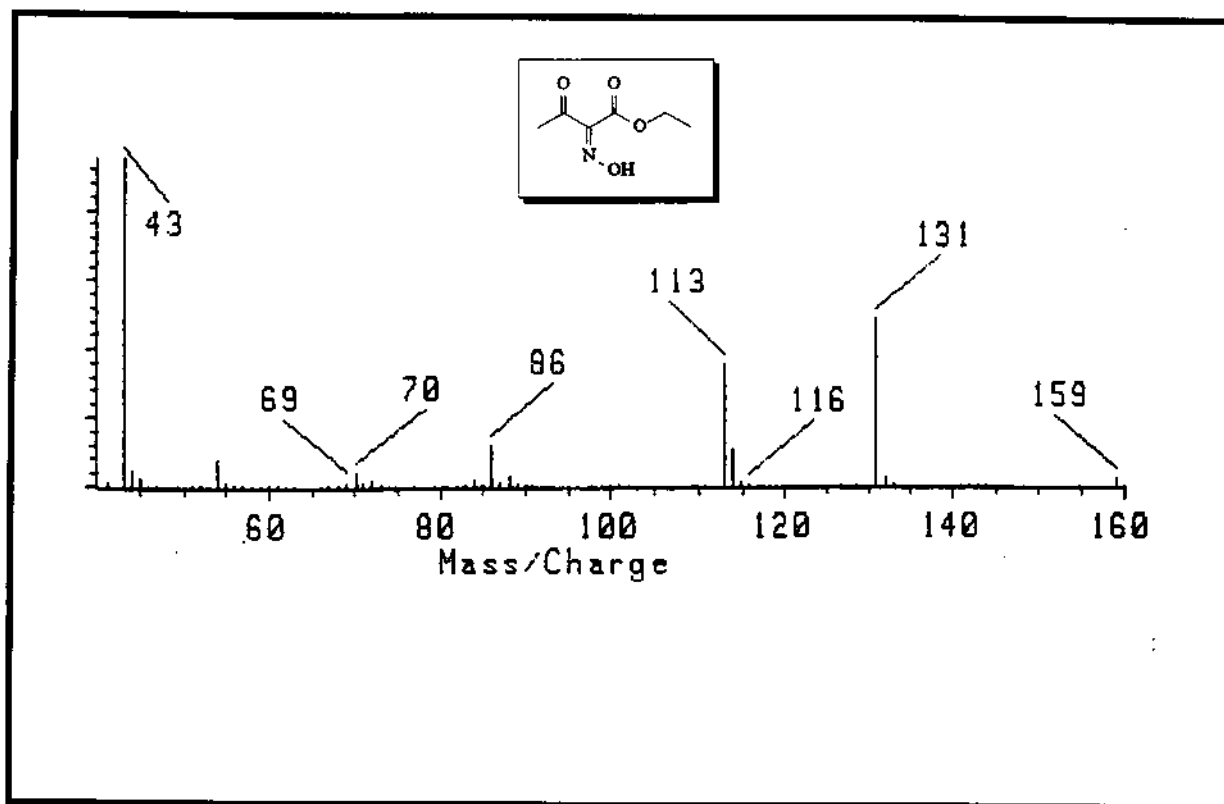
Espectro RMN-¹H: (Z)-2-hidroxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-20



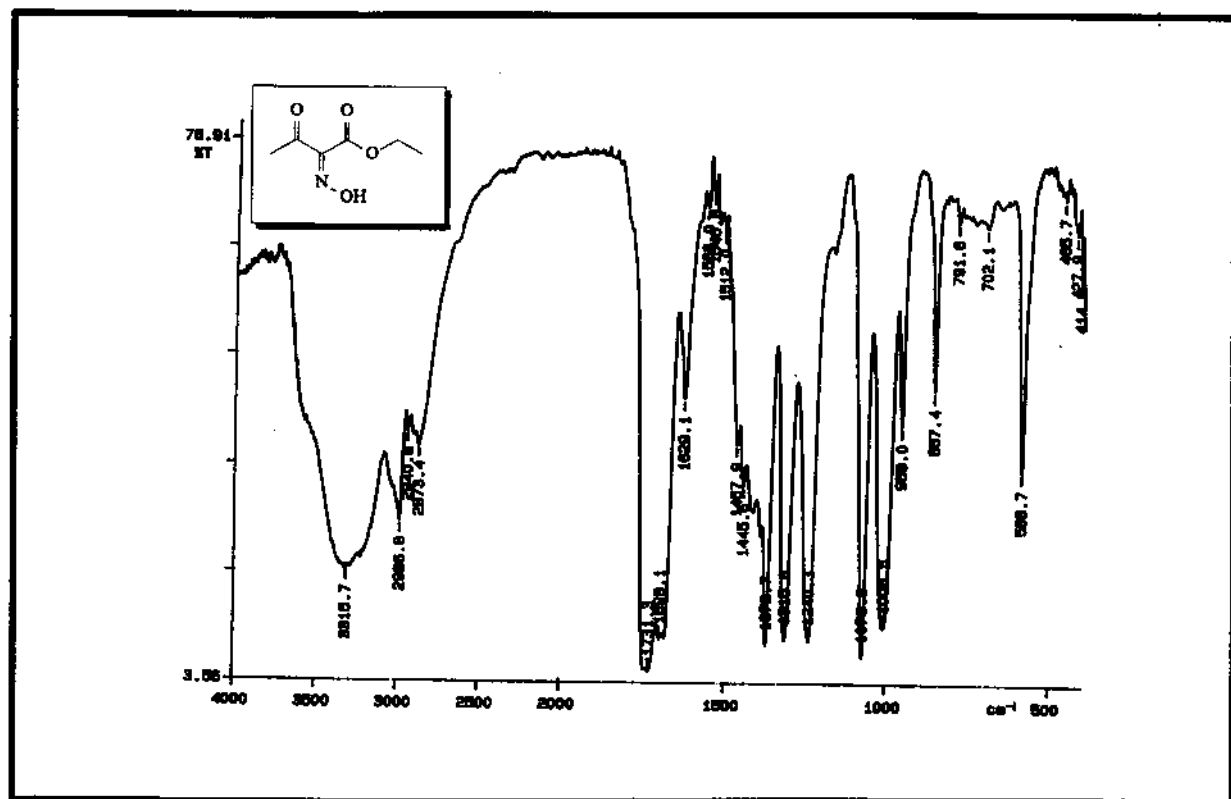
Espectro RMN- ^{13}C : (Z)-2-hidroxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-20



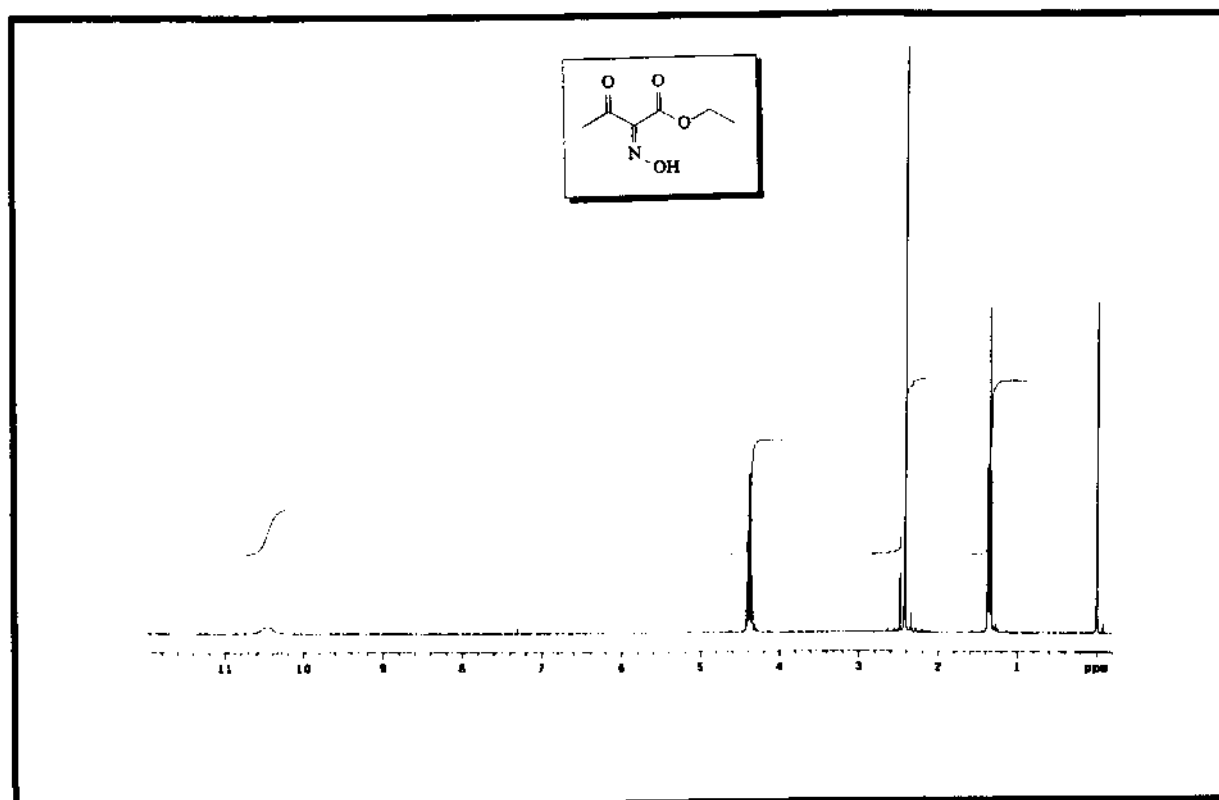
Espectro RMN- ^{13}C DEPT: (Z)-2-hidroxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-20



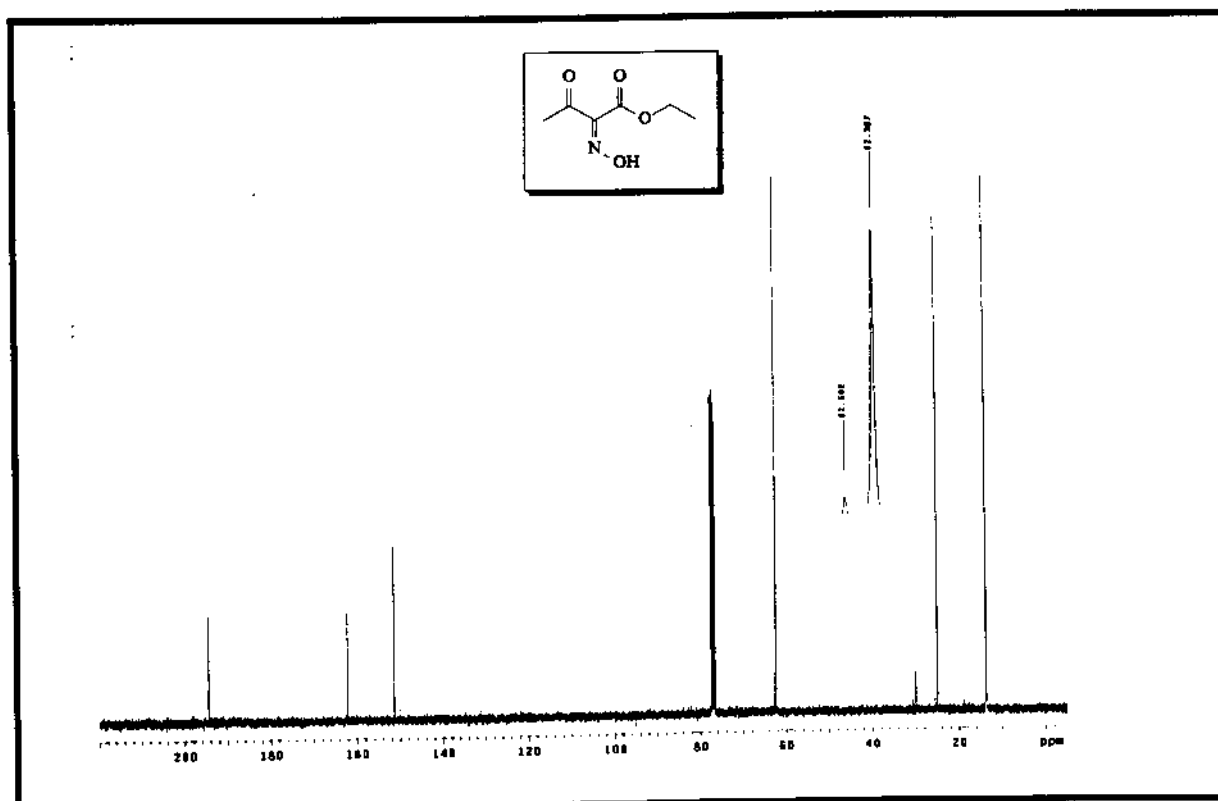
Espectro EM: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-21



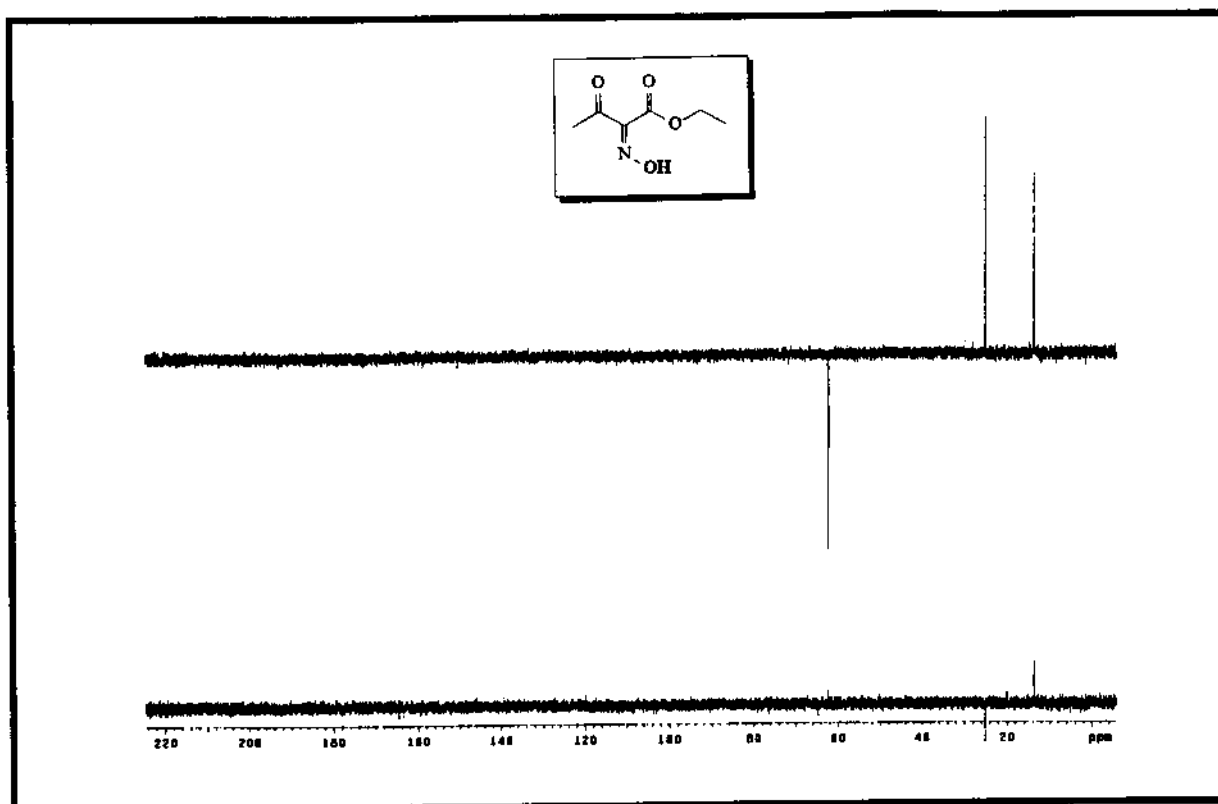
Espectro IV: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-21



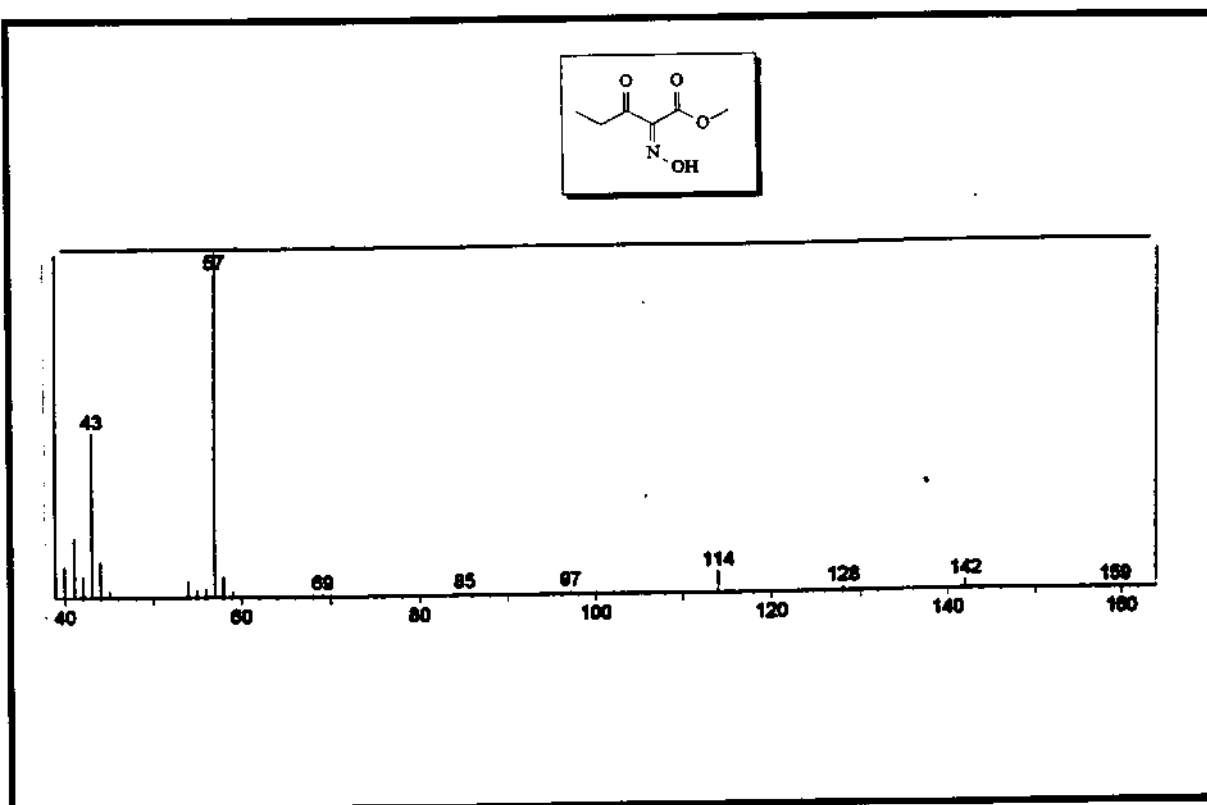
Espectro RMN- ^1H : (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-21



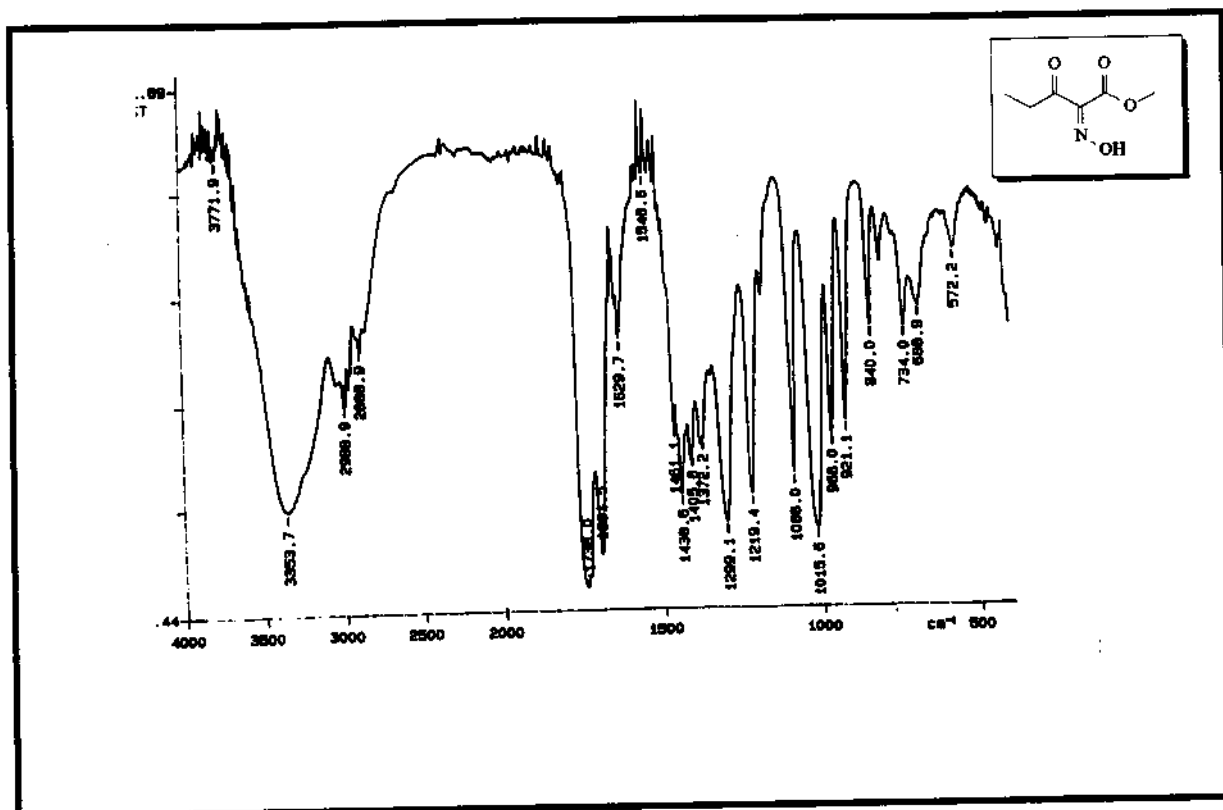
Espectro RMN- ^{13}C : (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-21



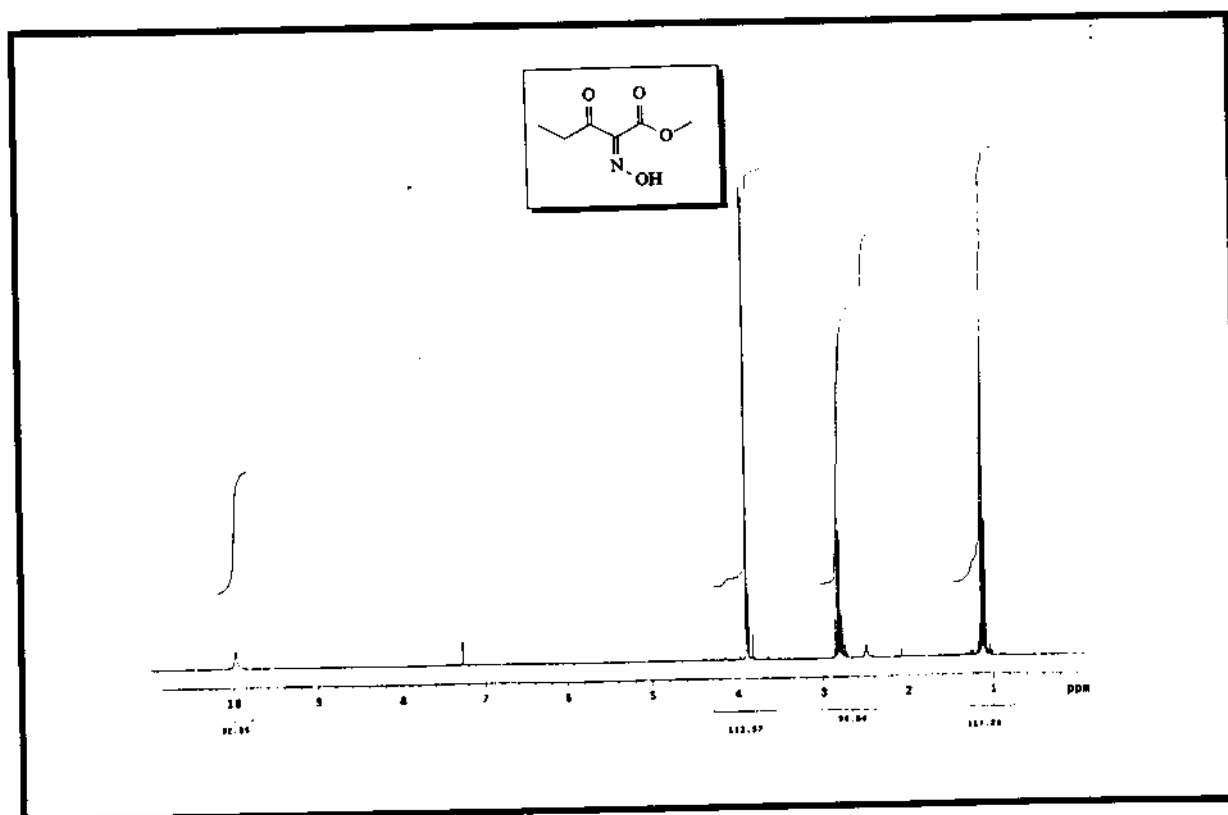
Espectro RMN-¹³C DEPT: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-21



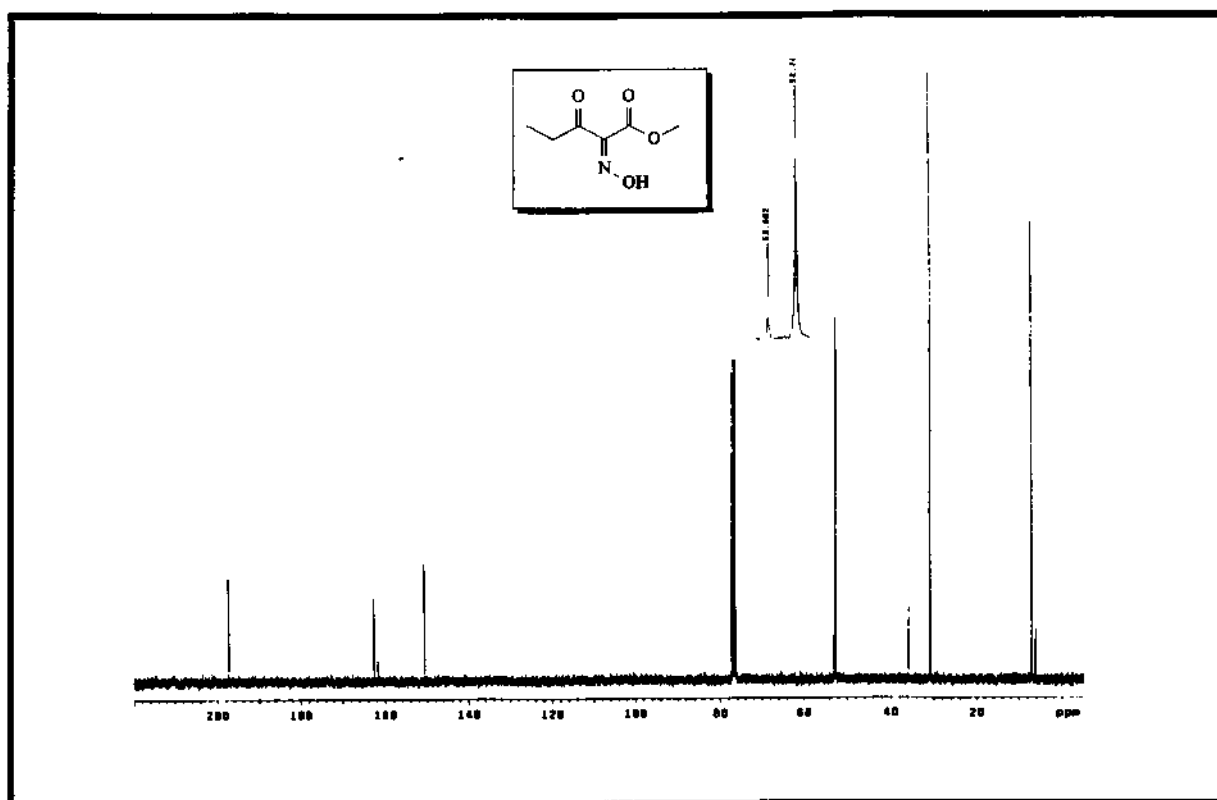
Espectro EM: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-22



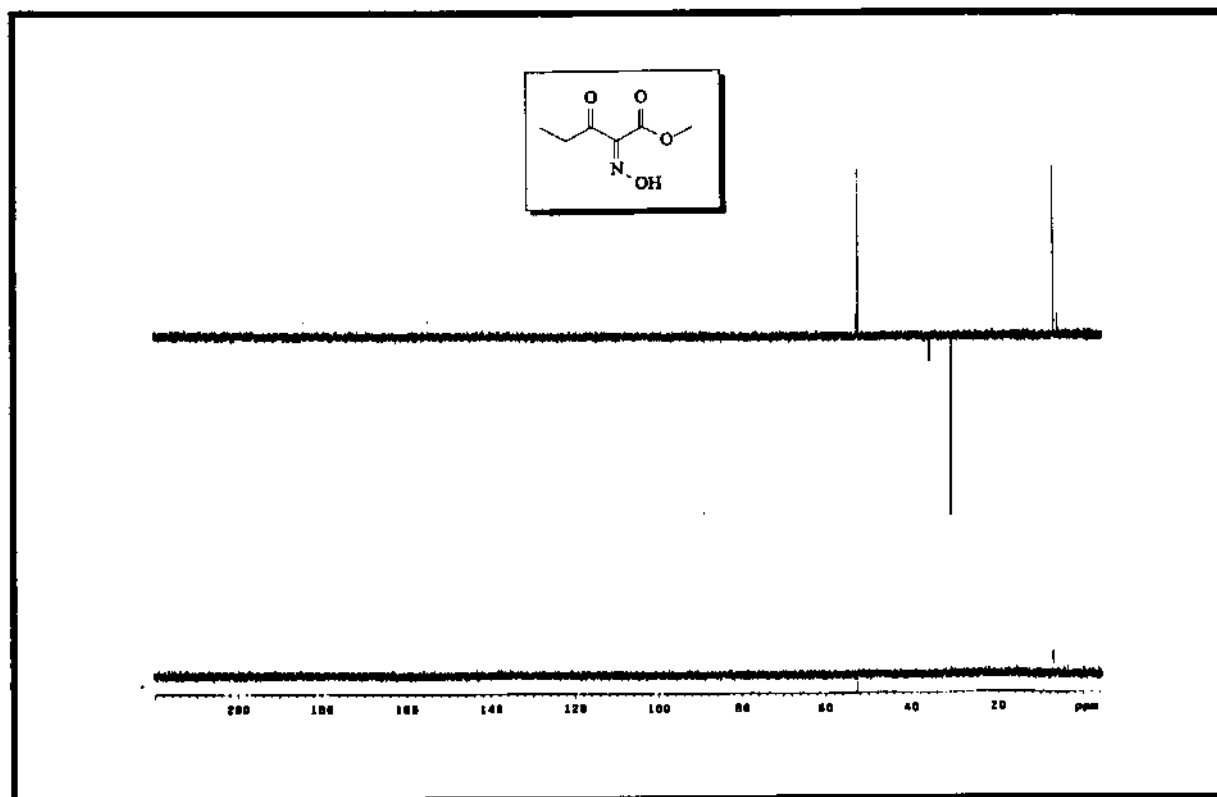
Espectro IV: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-22



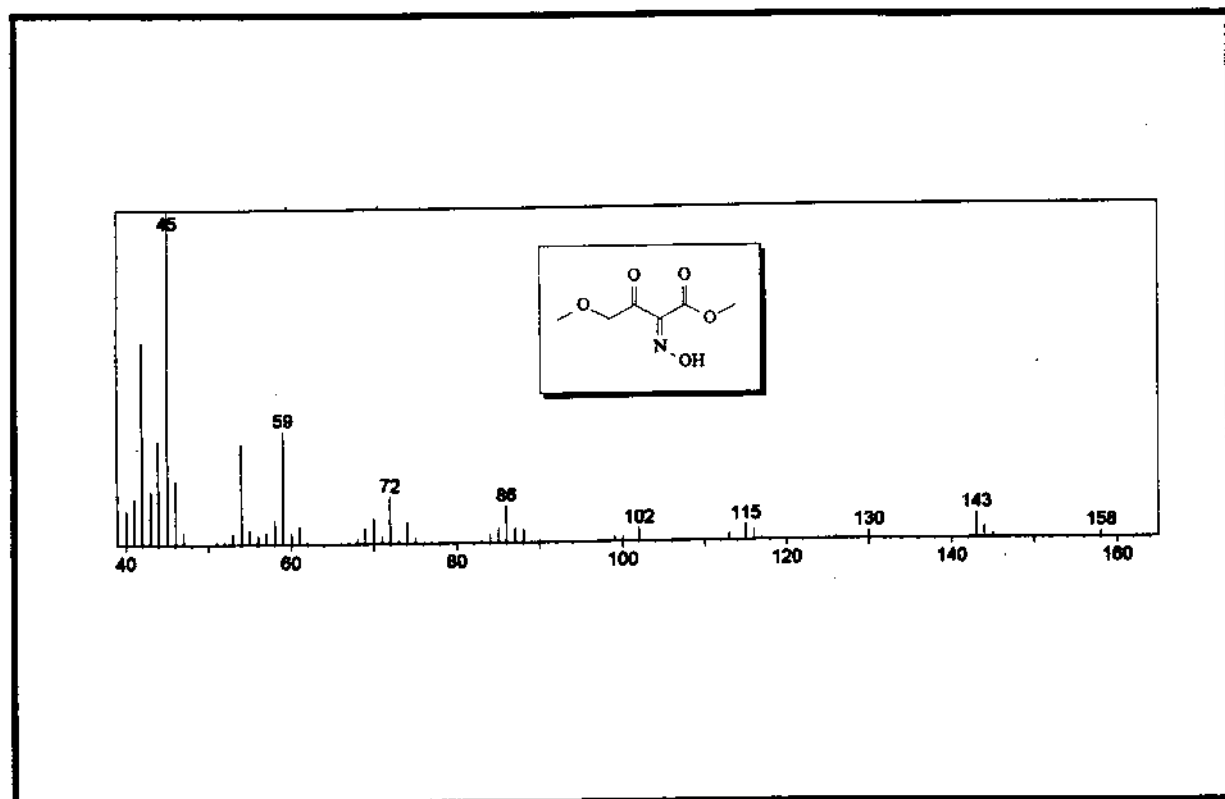
Espectro RMN-¹H: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-22



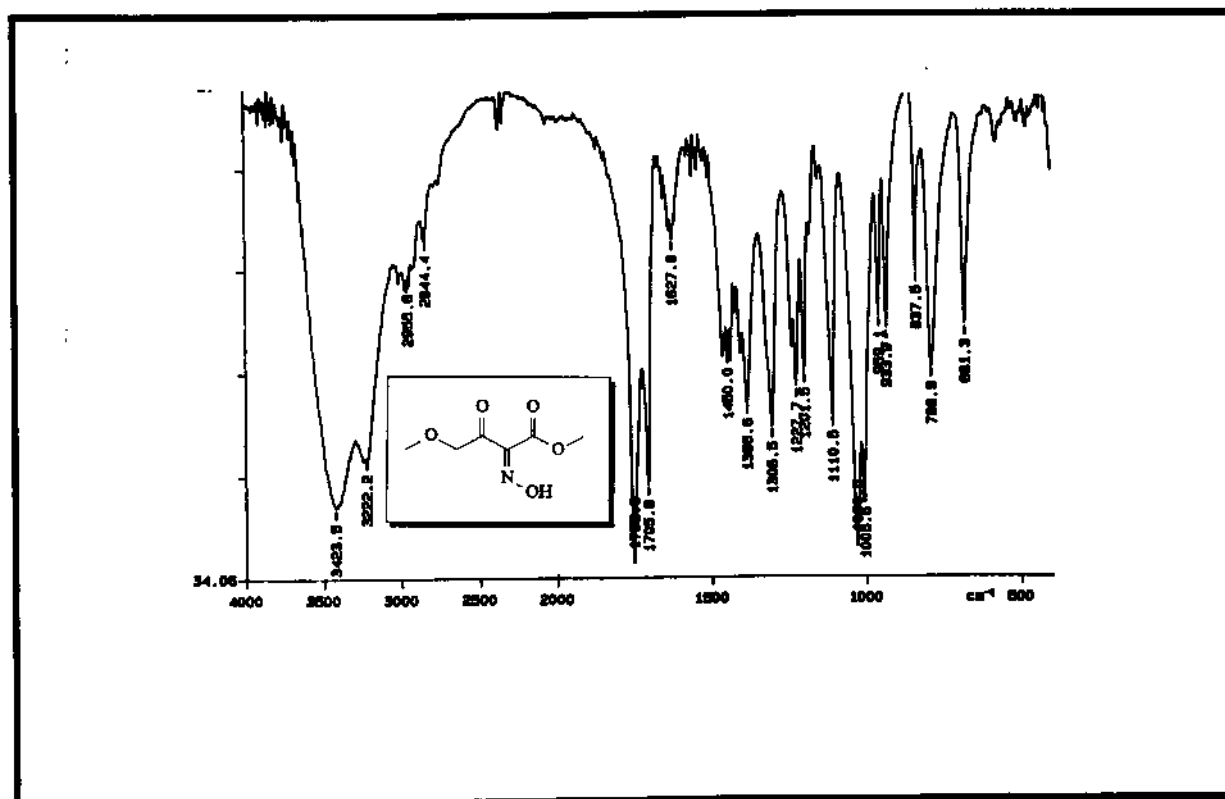
Espectro RMN- ^{13}C : (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-22



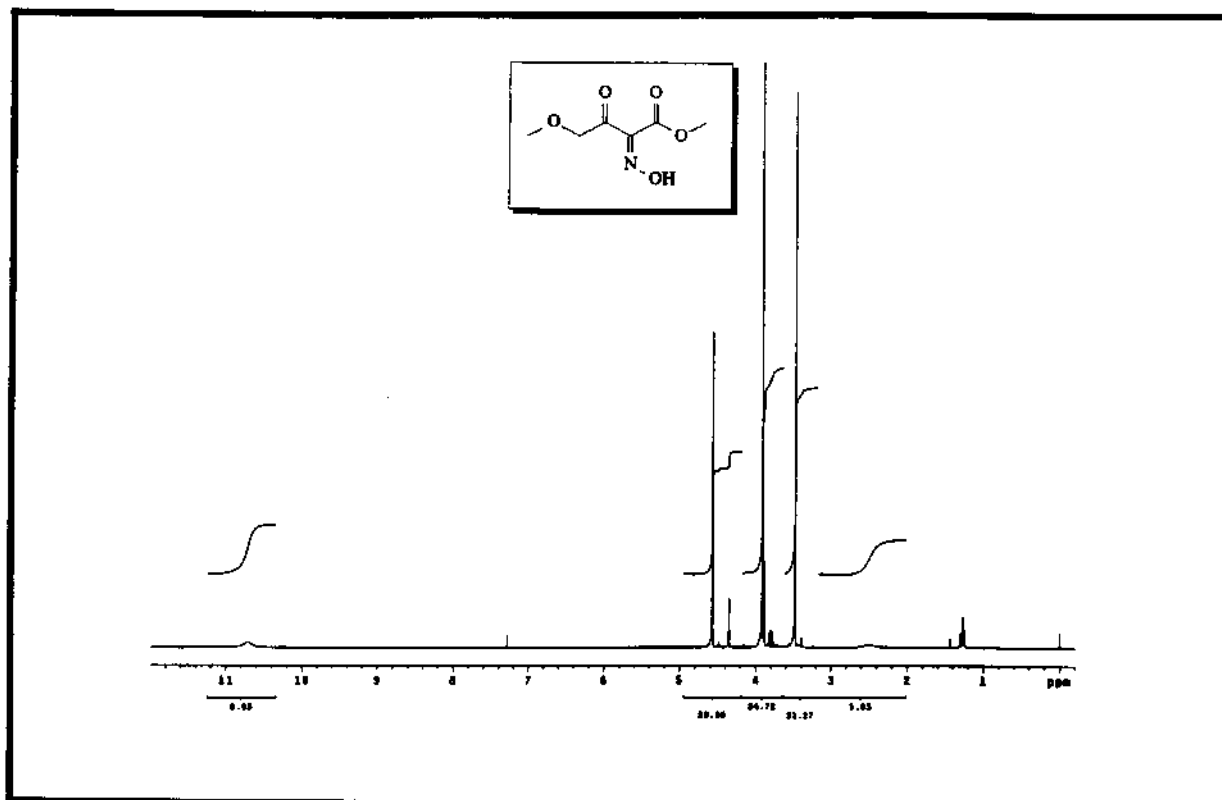
Espectro RMN- ^{13}C DEPT: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-22



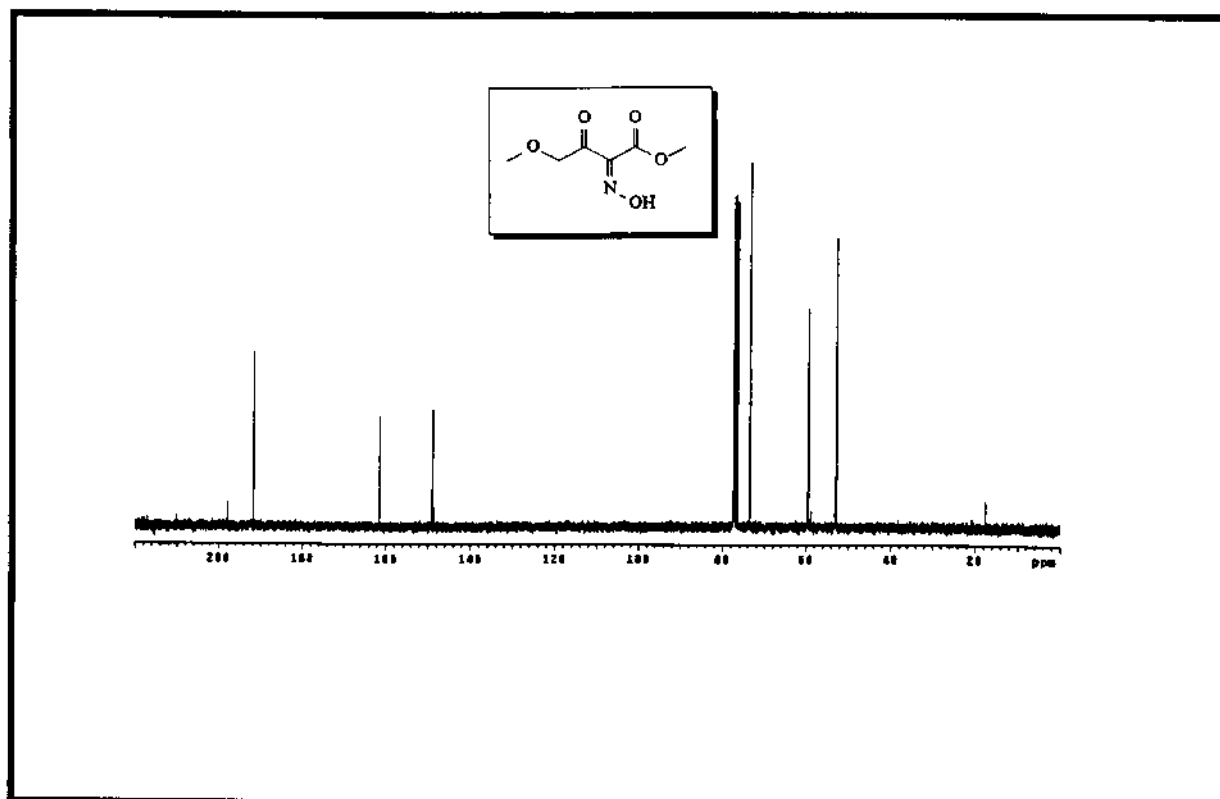
Espectro EM: (Z)-2-hidroxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-23



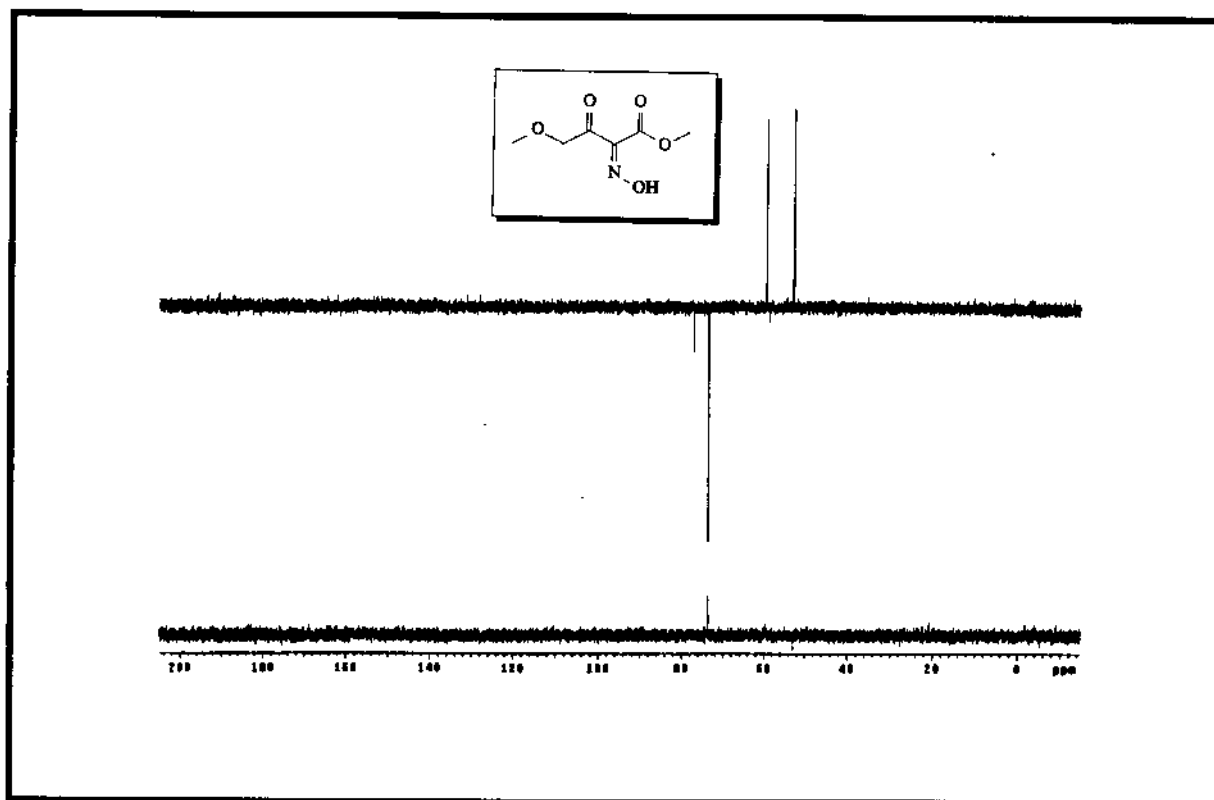
Espectro IV: (Z)-2-hidroxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-23



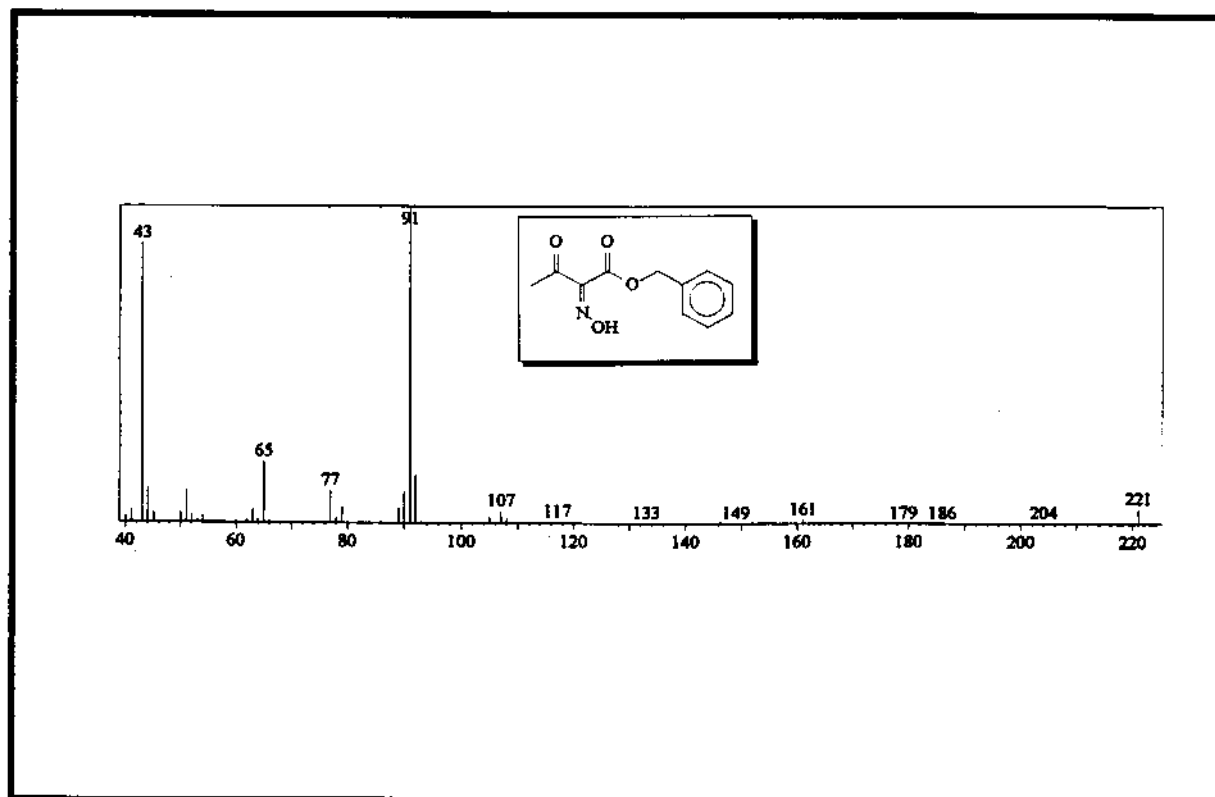
Espectro RMN- ^1H : (Z)-2-hidroxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-23



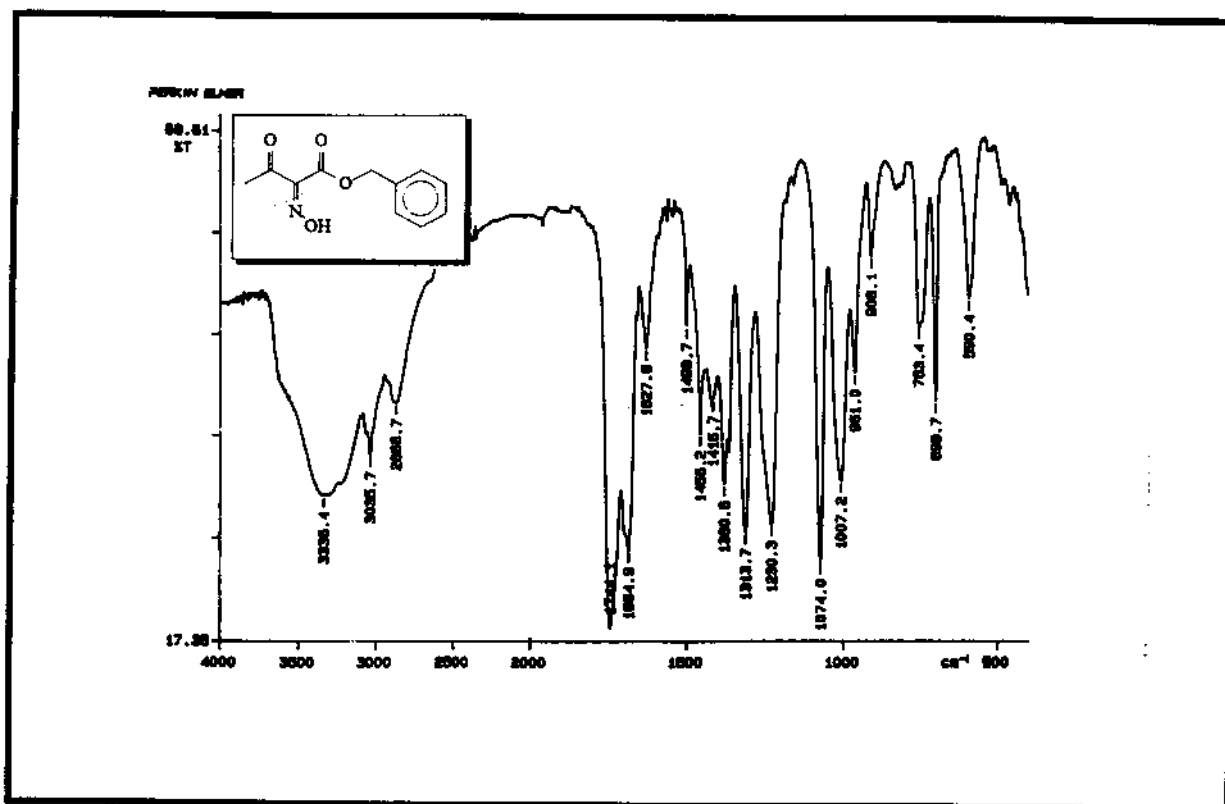
Espectro RMN- ^{13}C : (Z)-2-hidroxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-23



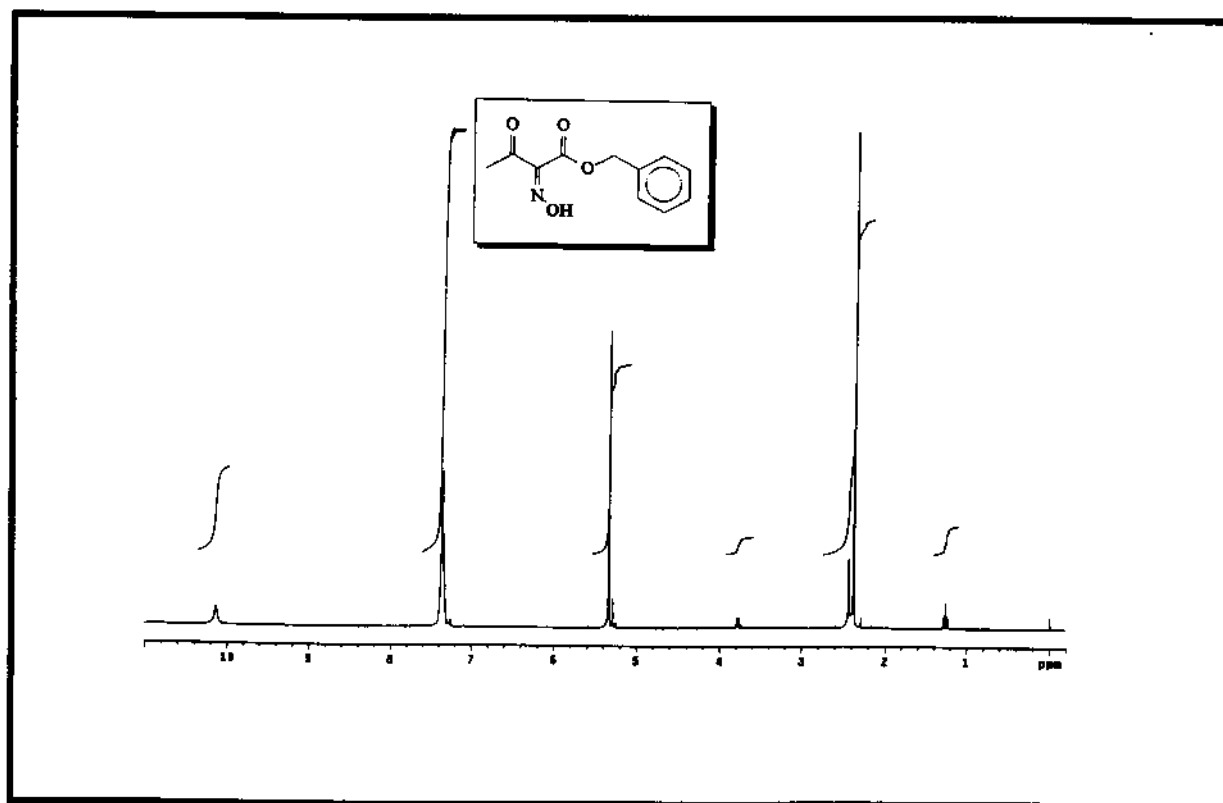
Espectro RMN-¹³C DEPT: (Z)-2-hidroxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-23



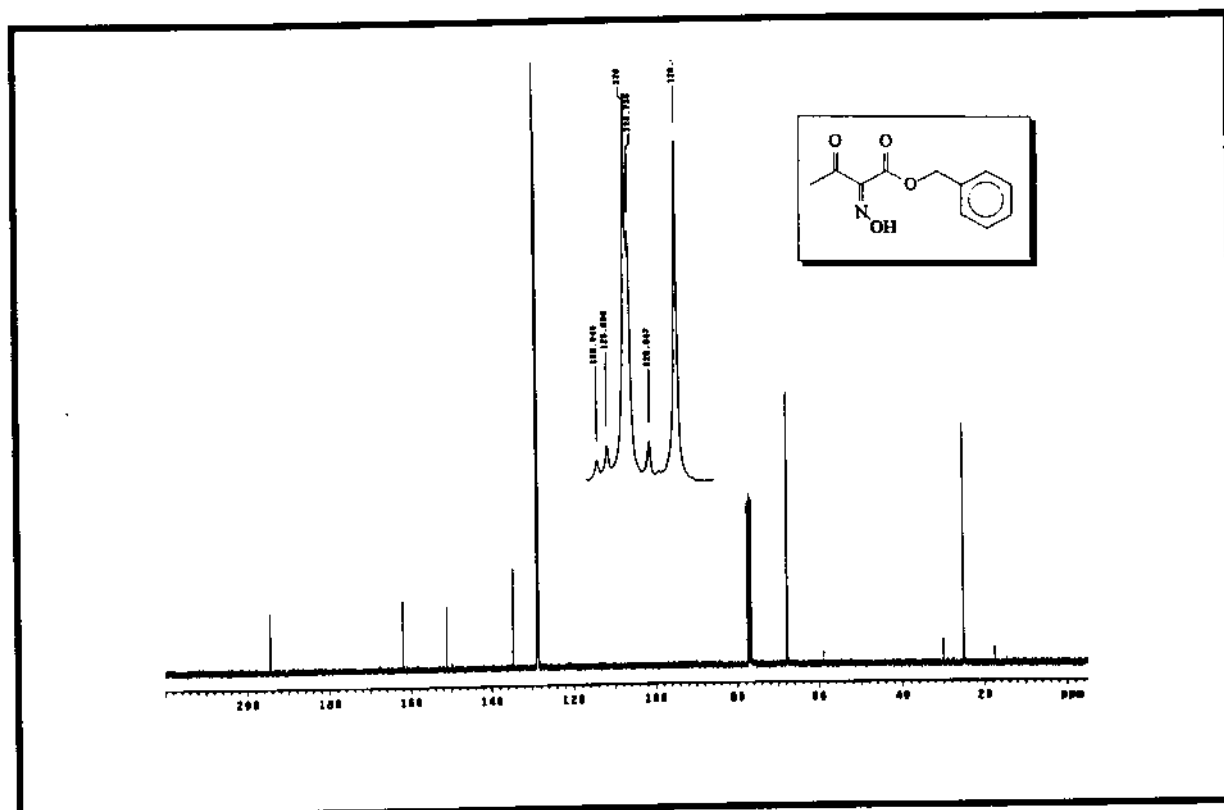
Espectro EM: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-24



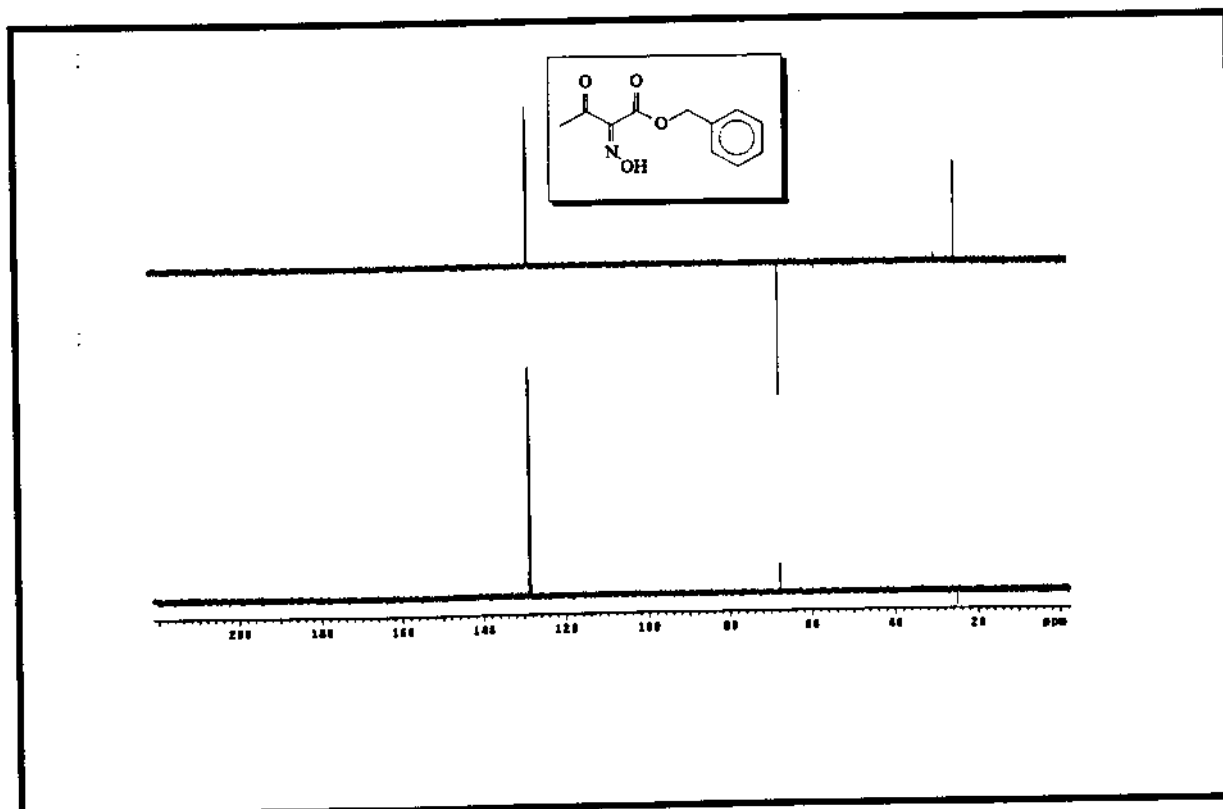
Espectro IV: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-24



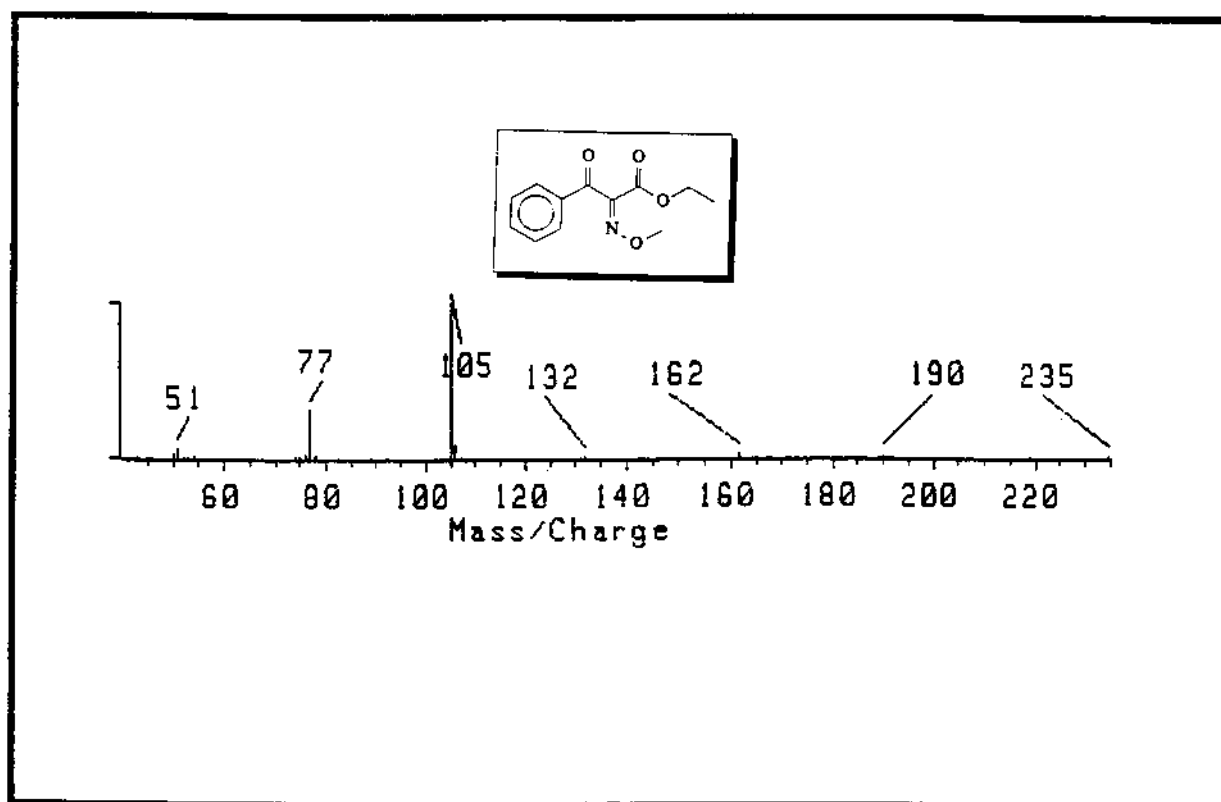
Espectro RMN-¹H: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-24



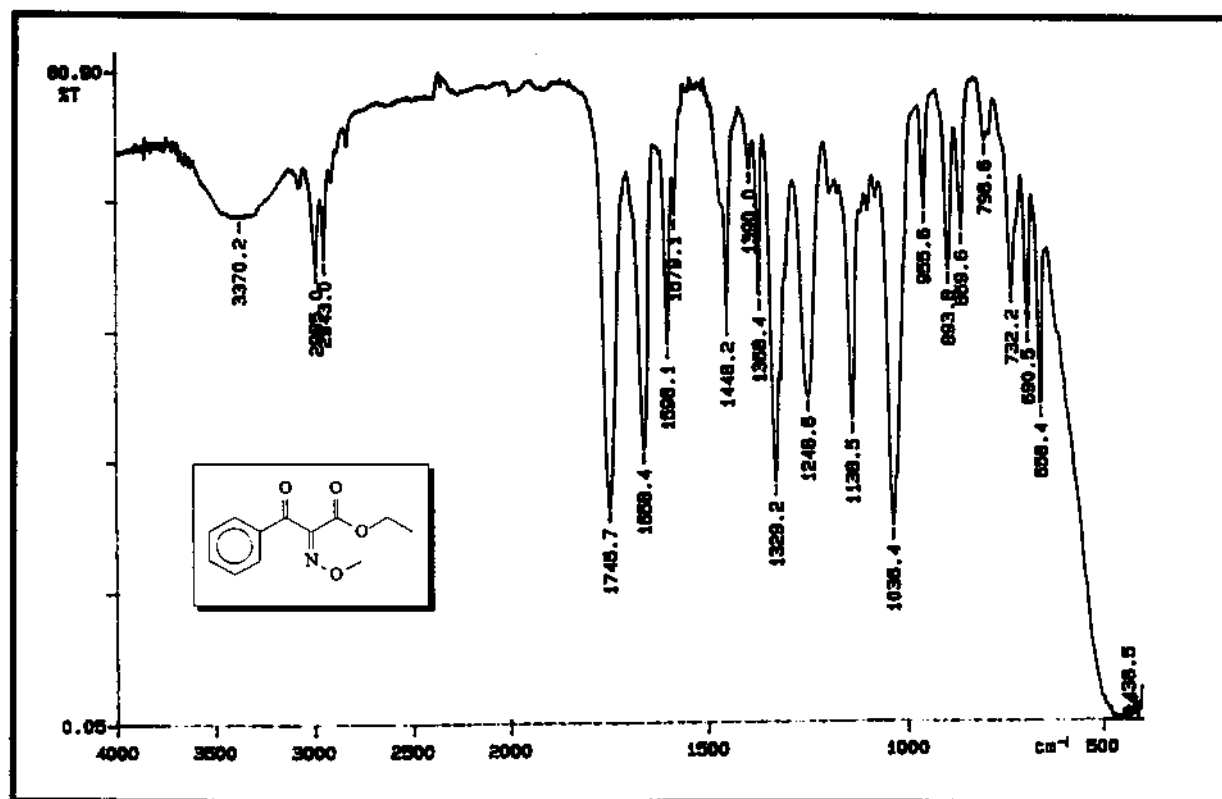
Espectro RMN-¹³C: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-24



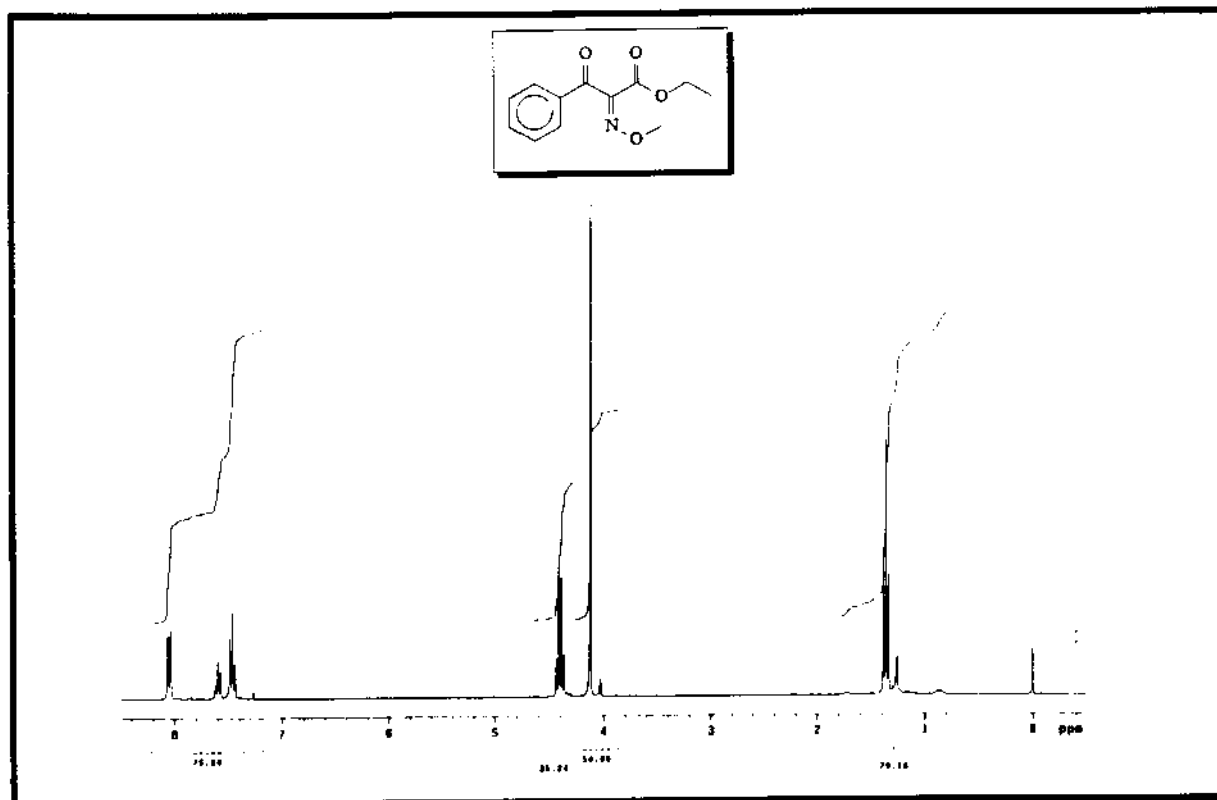
Espectro RMN-¹³C DEPT: (Z)-2-hidroxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-24



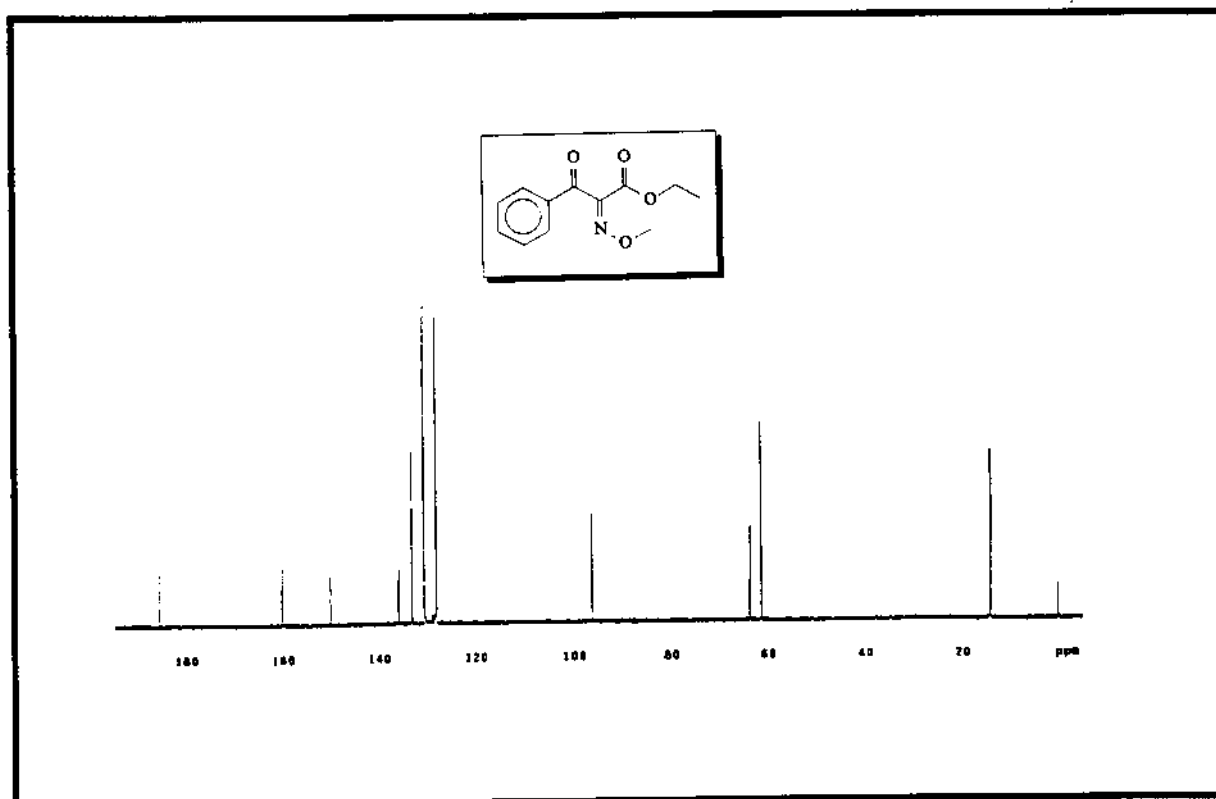
Espectro EM: (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-25



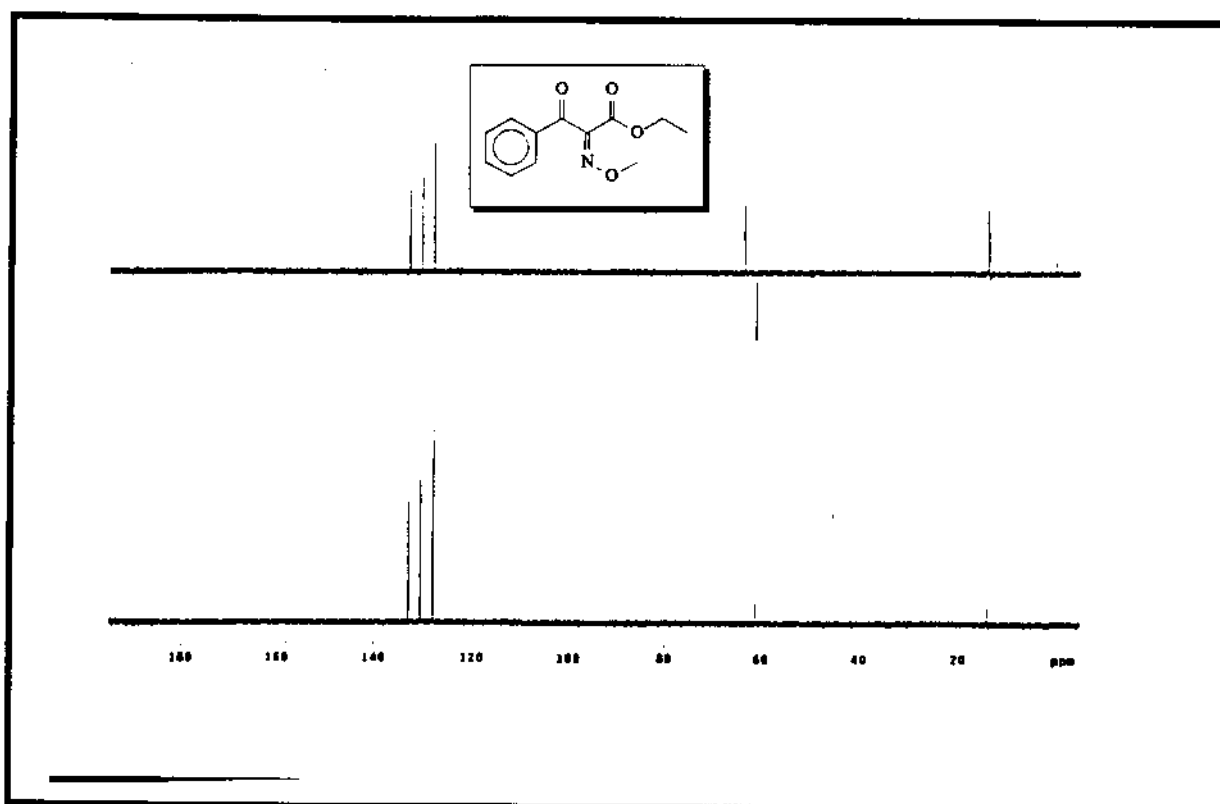
Espectro IV: (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-25



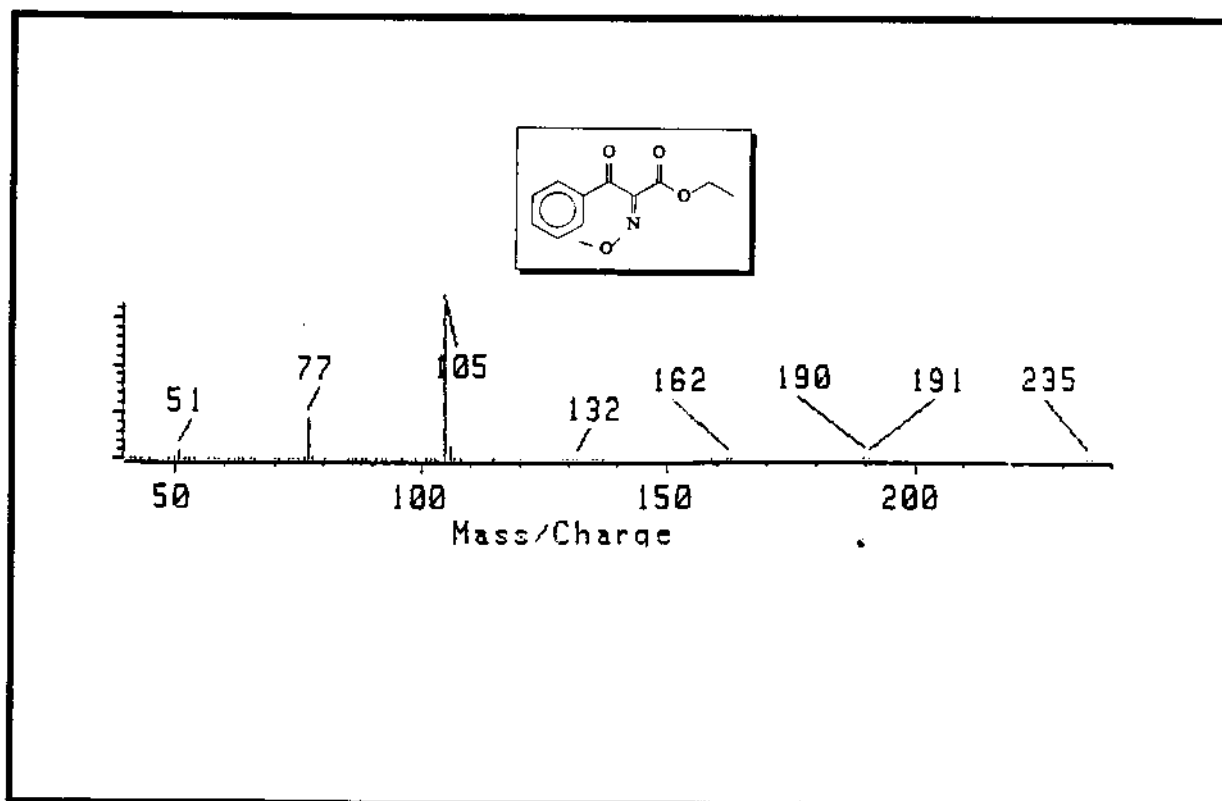
Espectro RMN-¹H: (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-25



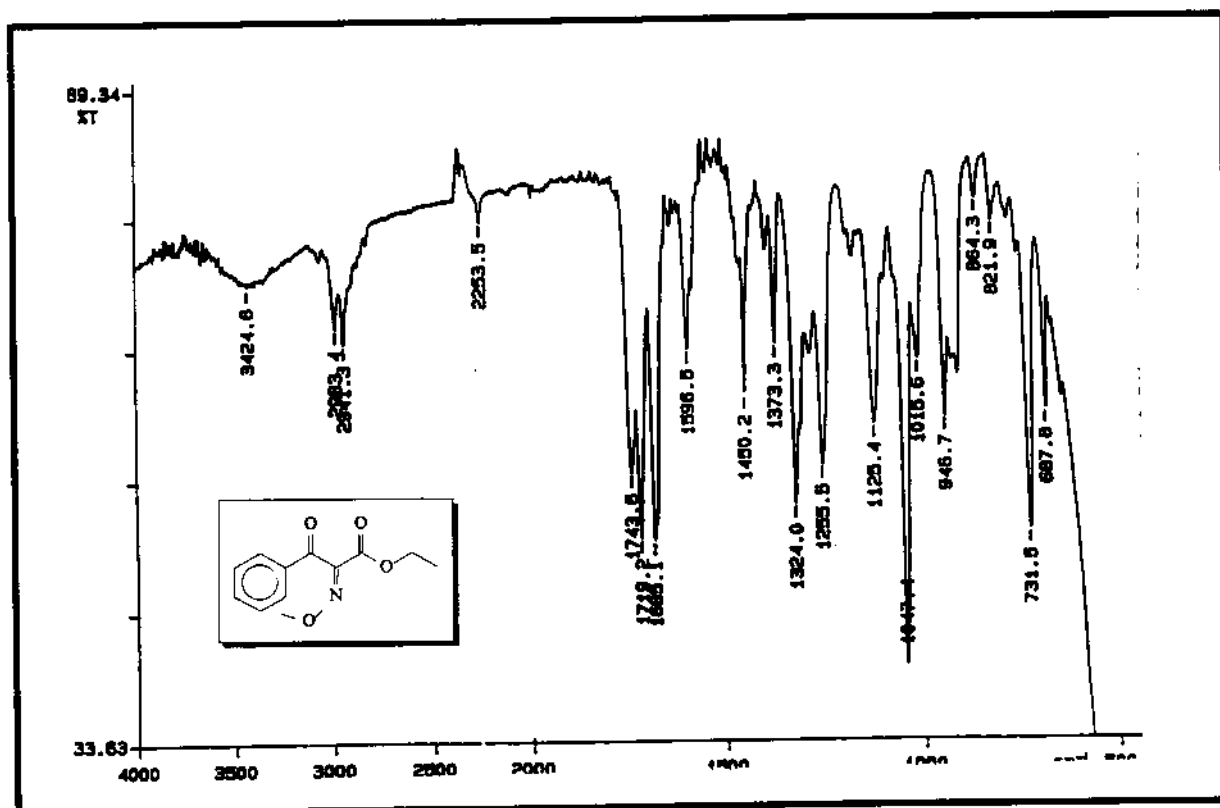
Espectro RMN-¹³C: (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-25



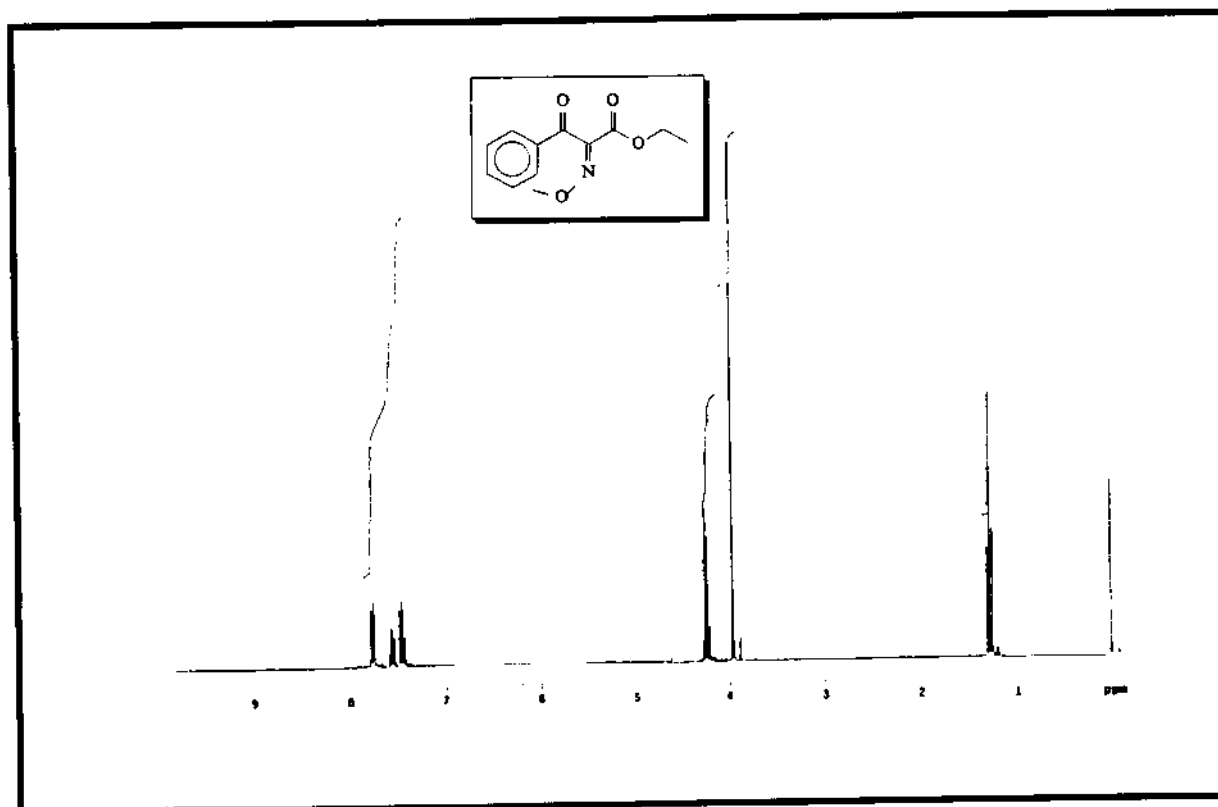
Espectro RMN-¹³C DEPT: (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (Z)-25



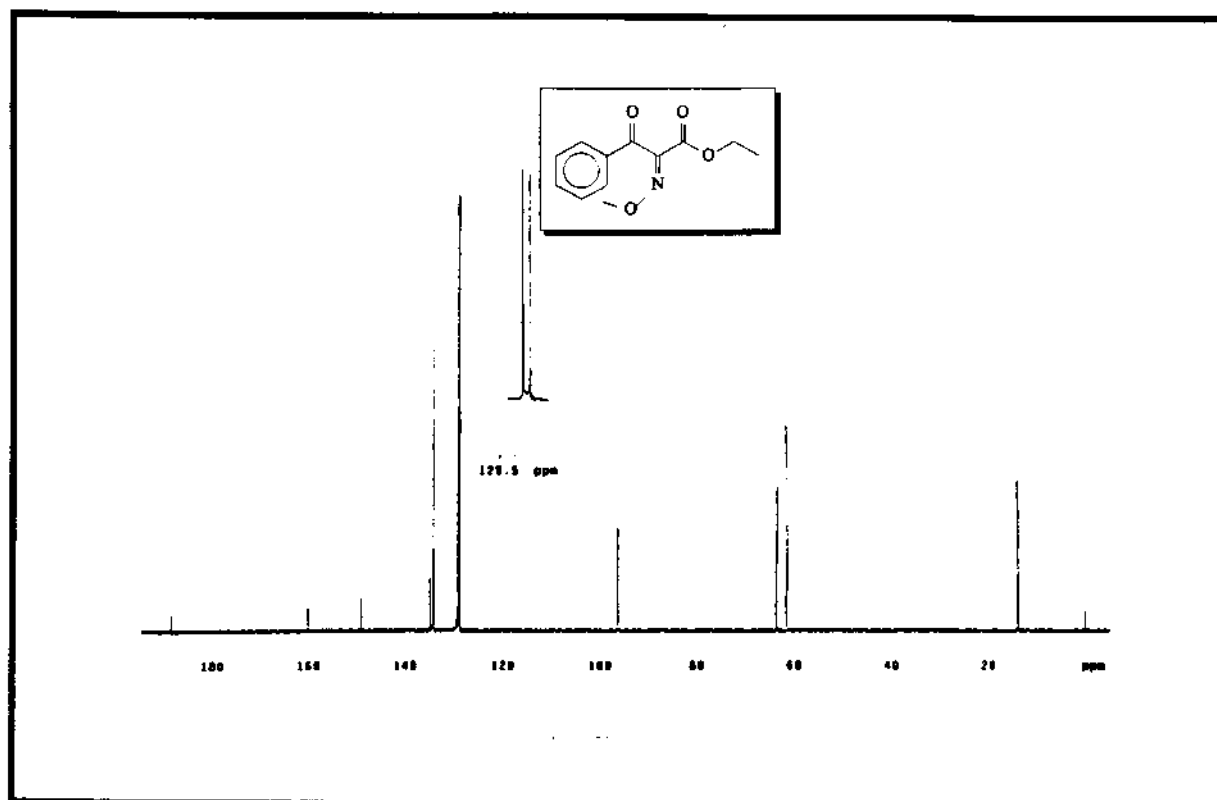
Espectro EM: (E)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (E)-25



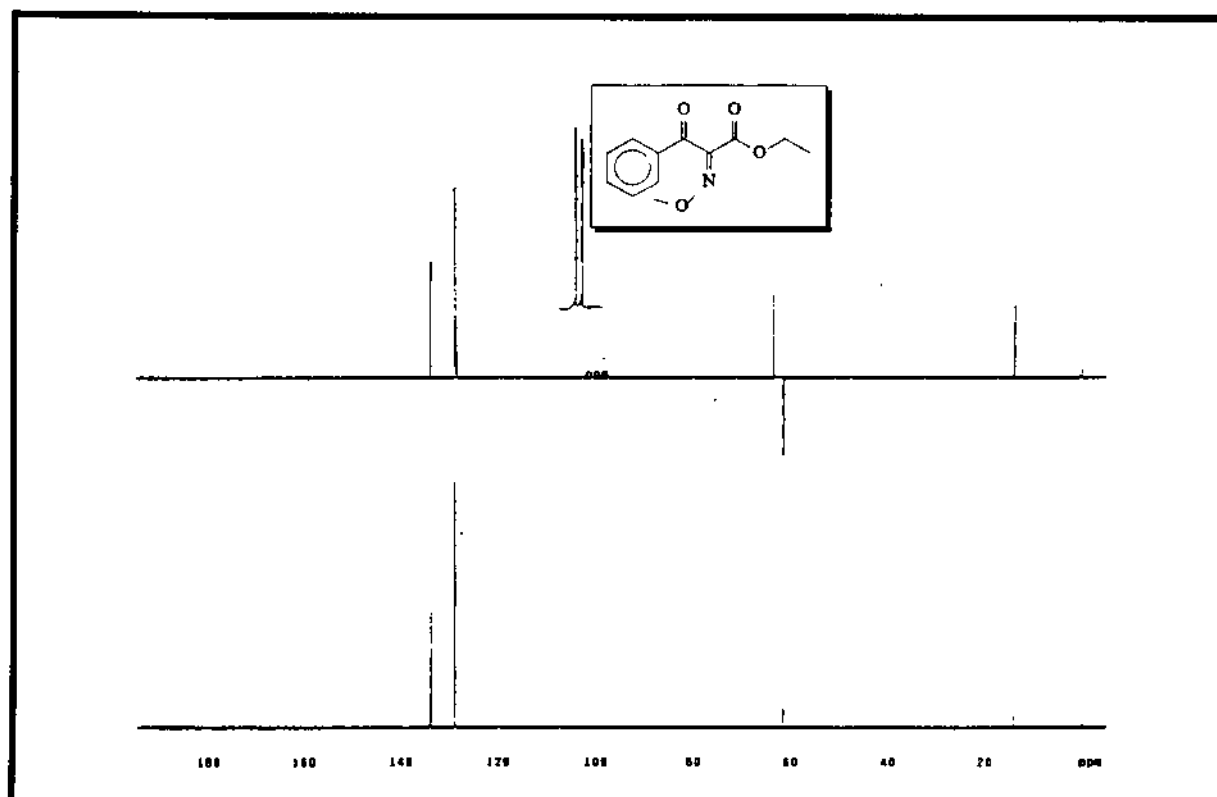
Espectro IV: (E)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (E)-25



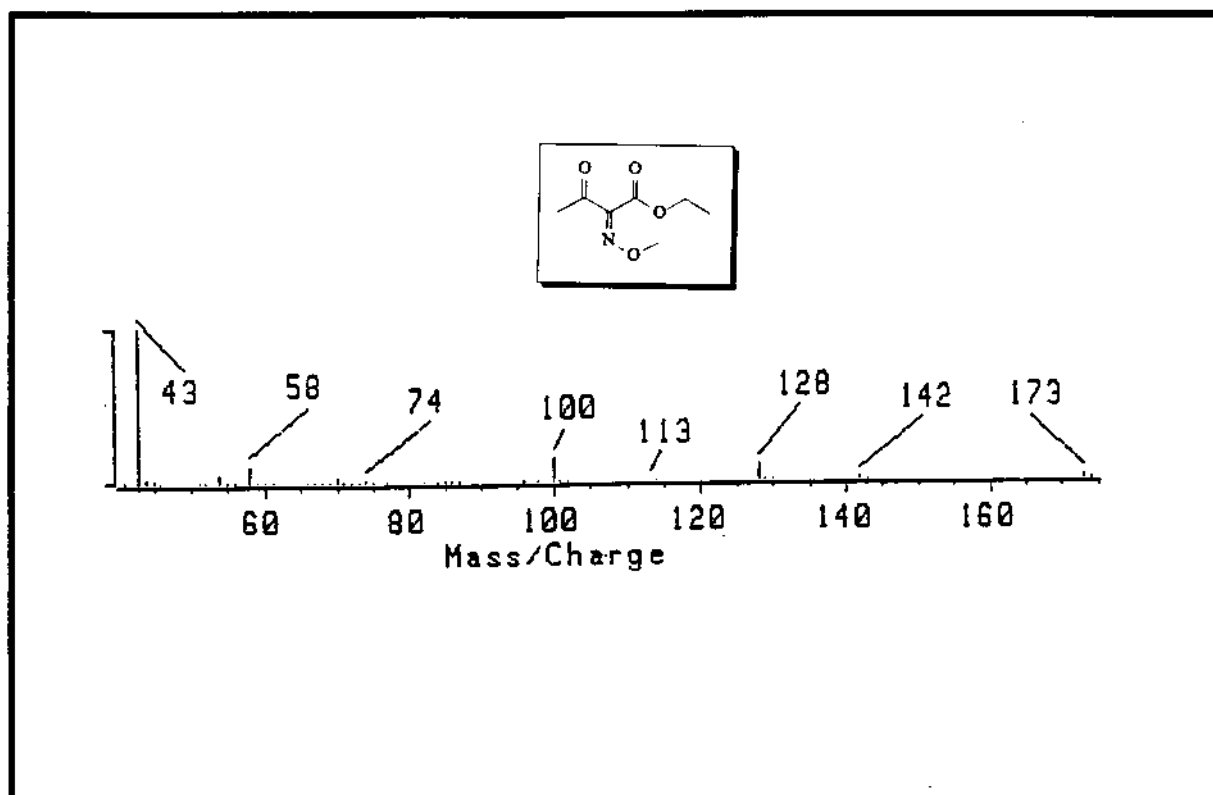
Espectro RMN-¹H: (E)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (E)-25



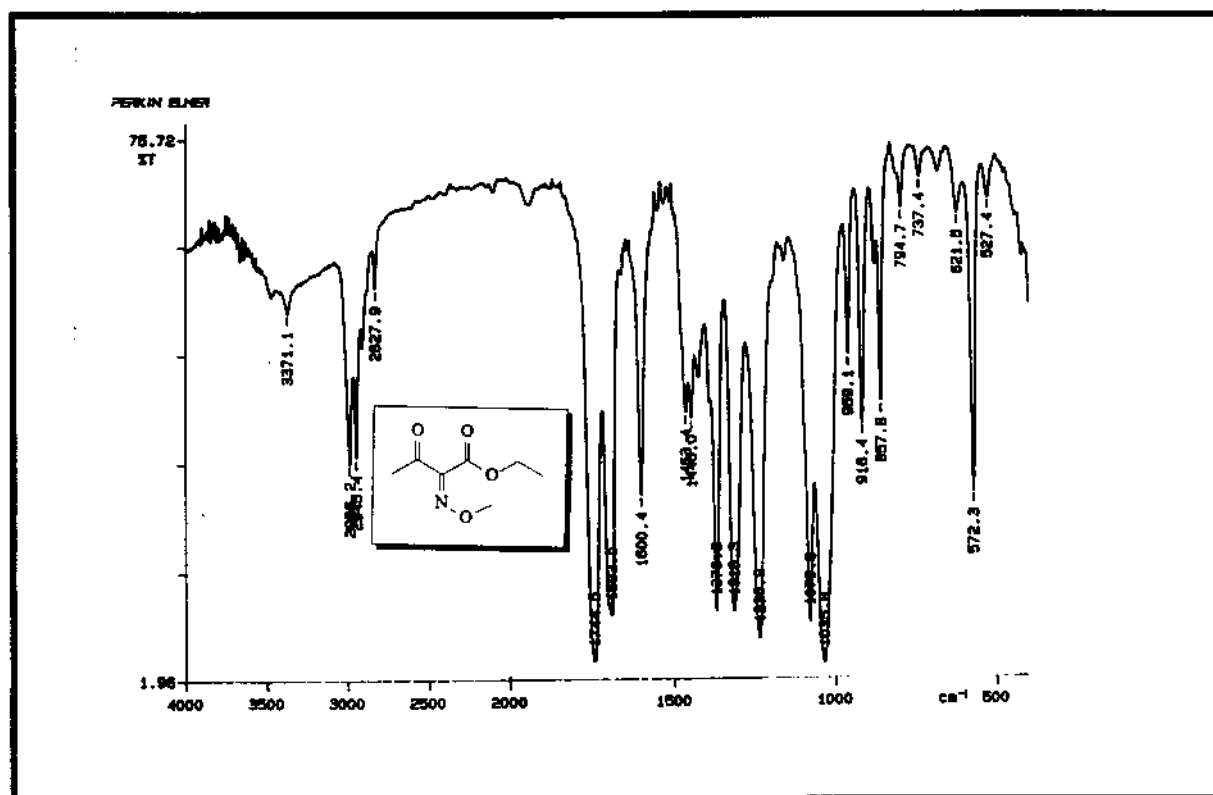
Espectro RMN- ^{13}C : (E)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (E)-25



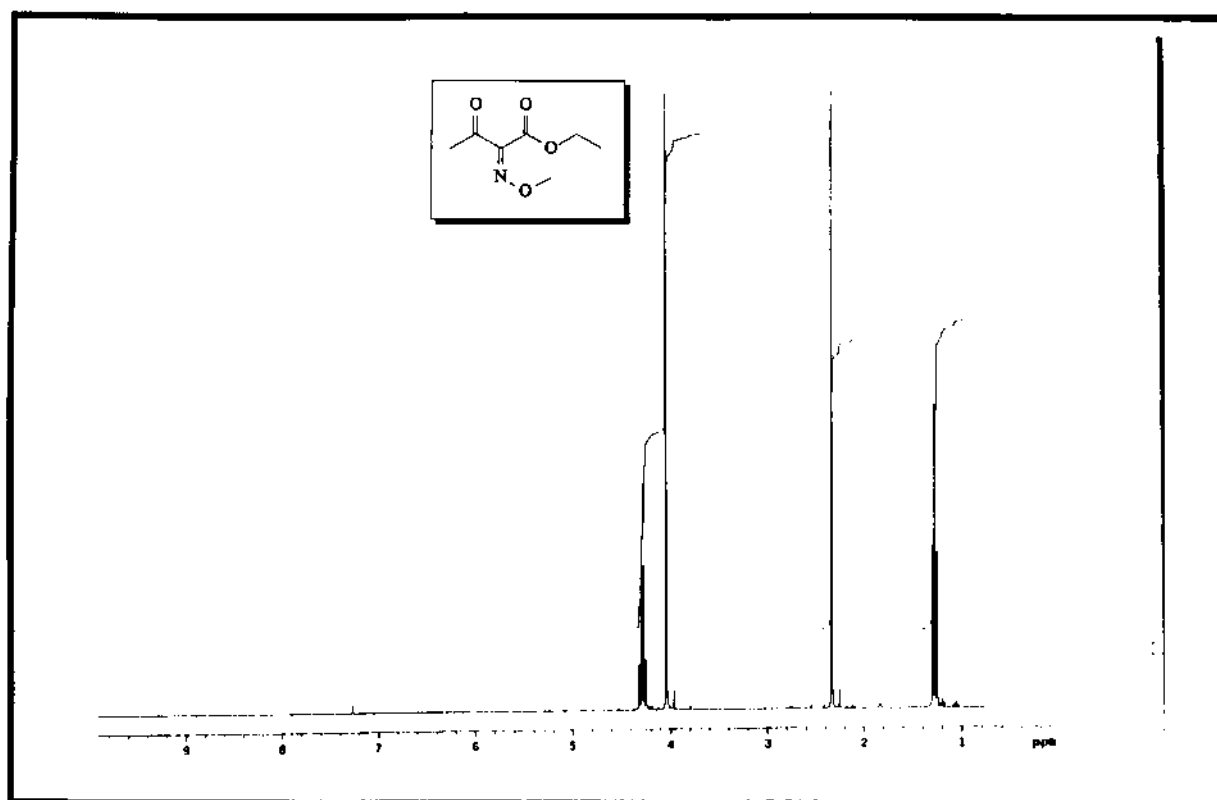
Espectro RMN- ^{13}C DEPT: (E)-2-metoxilimino-3-fenil-3-oxo-propionato de etila, (E)-25



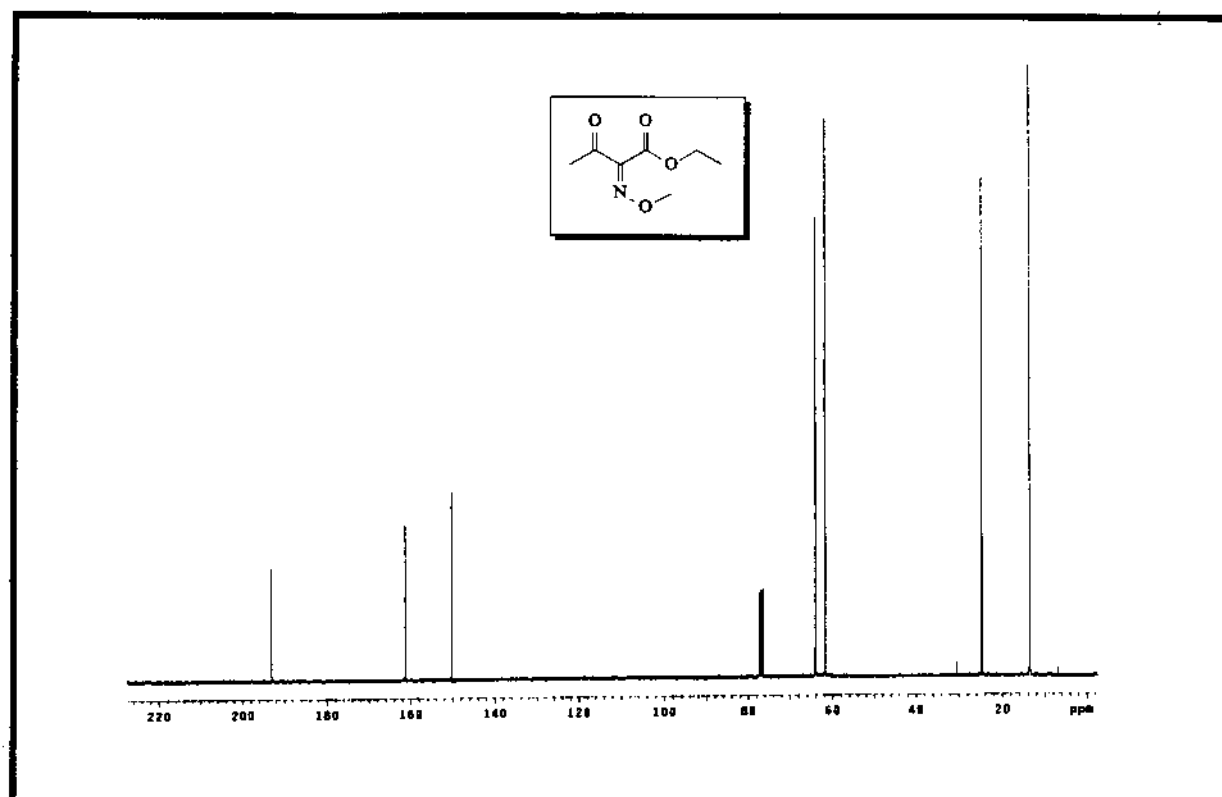
Espectro EM: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-26



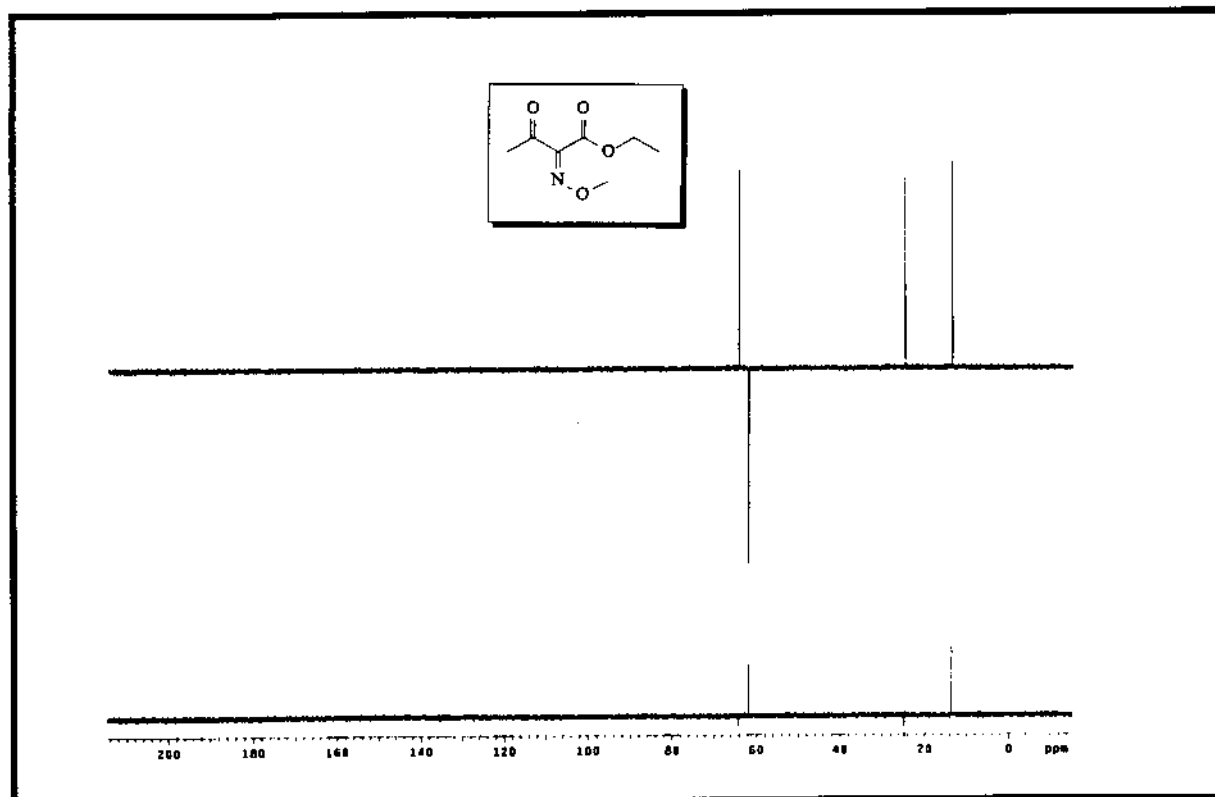
Espectro IV: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-26



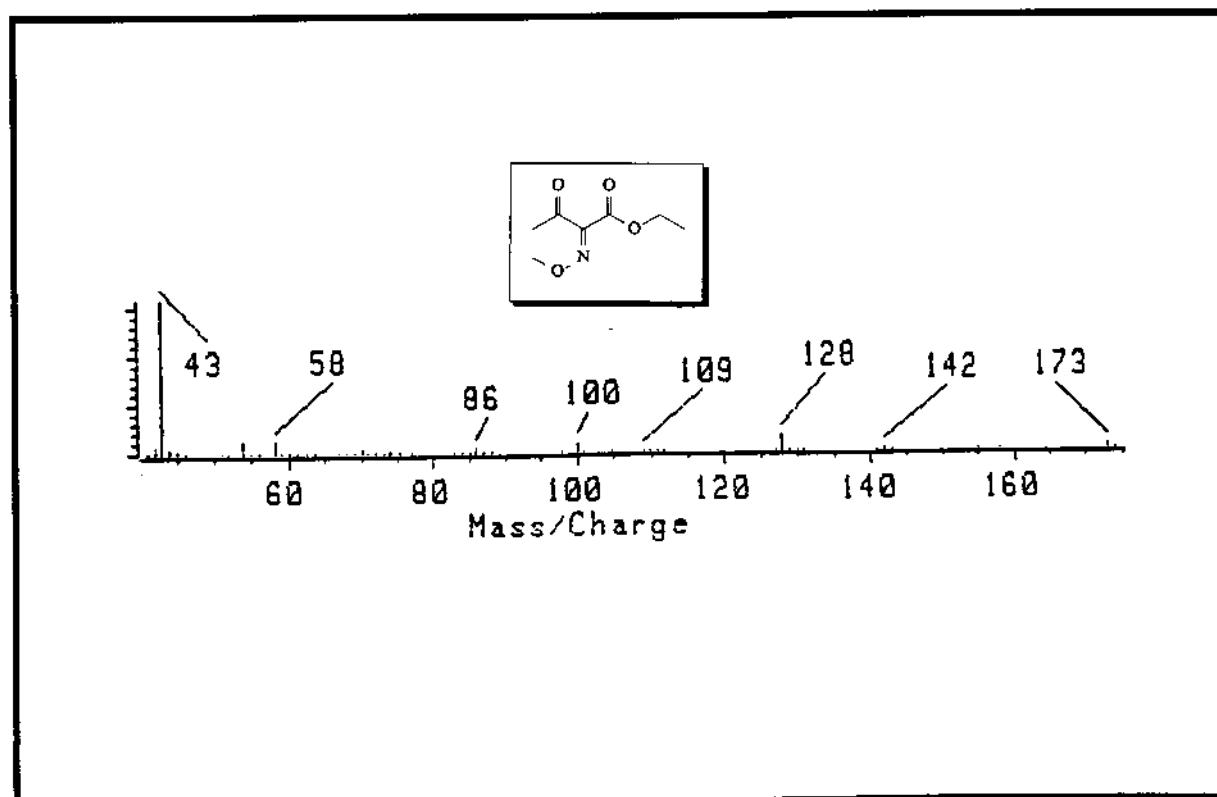
Espectro RMN- ^1H : (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-26



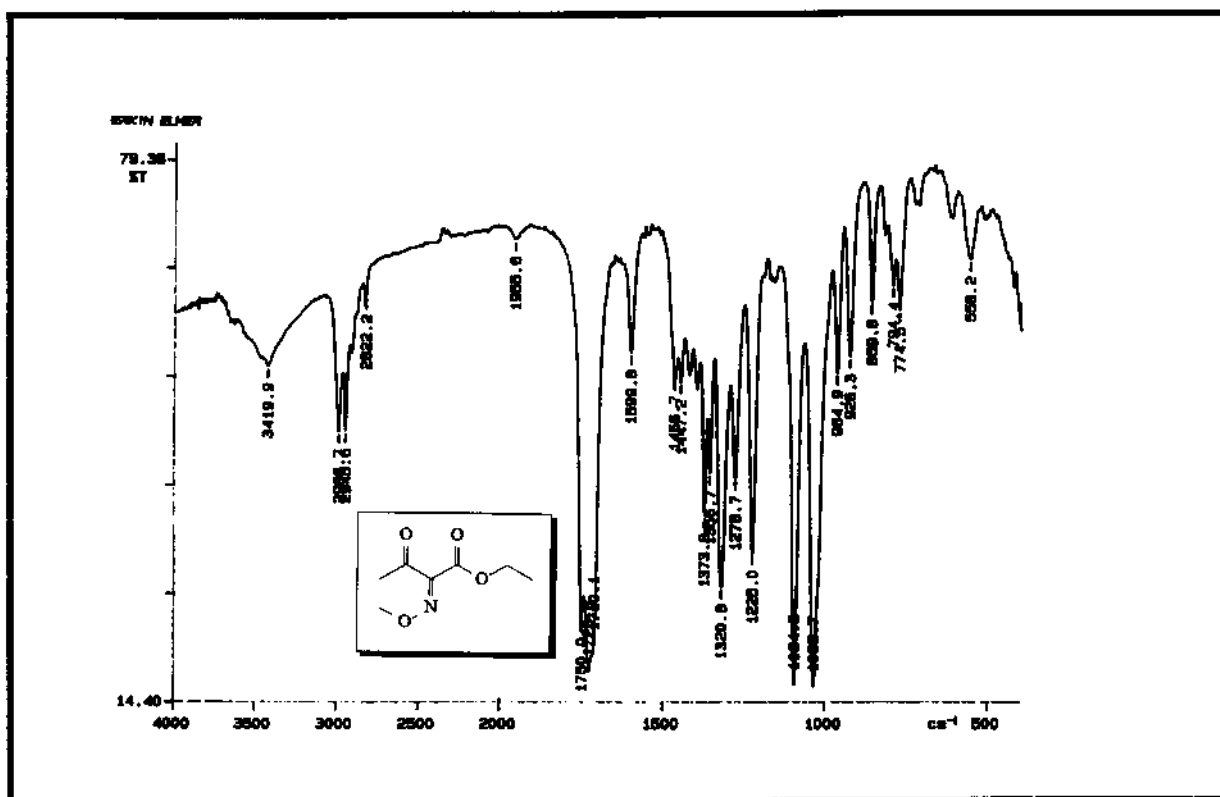
Espectro RMN- ^{13}C : (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-26



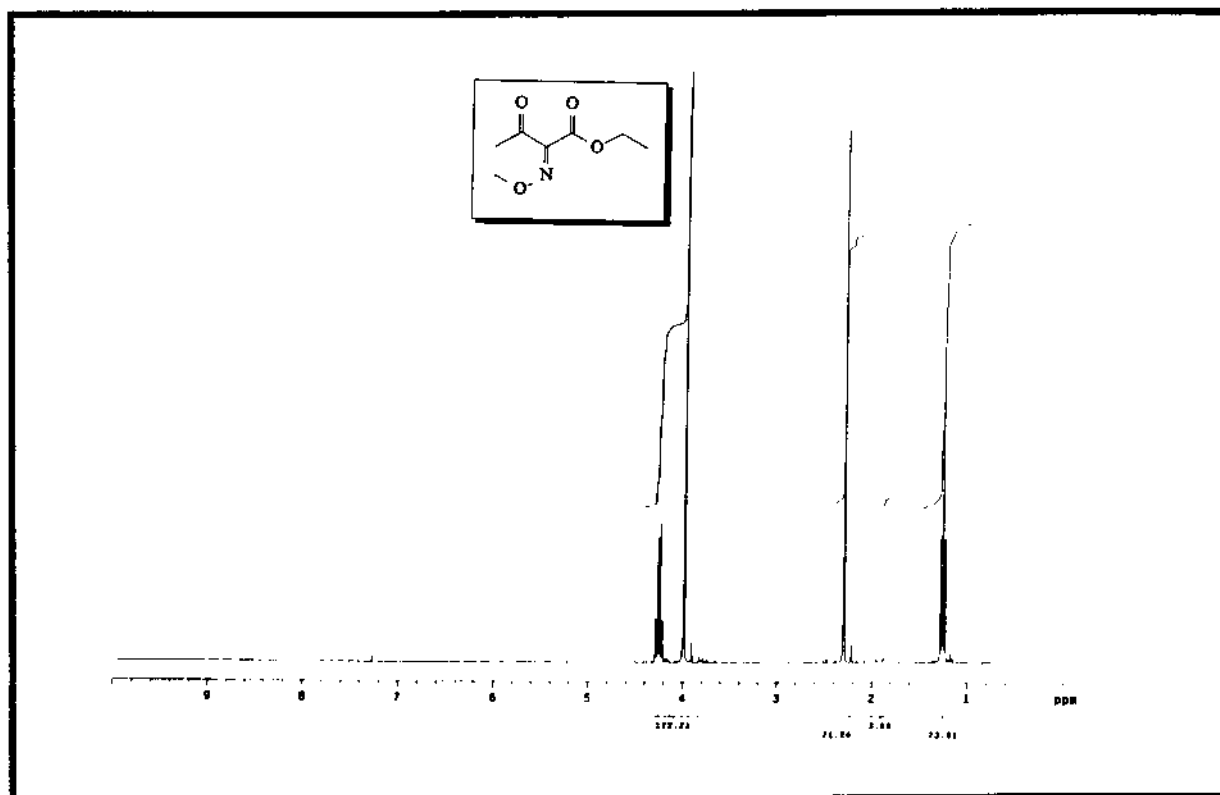
Espectro RMN-¹³C DEPT: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-26



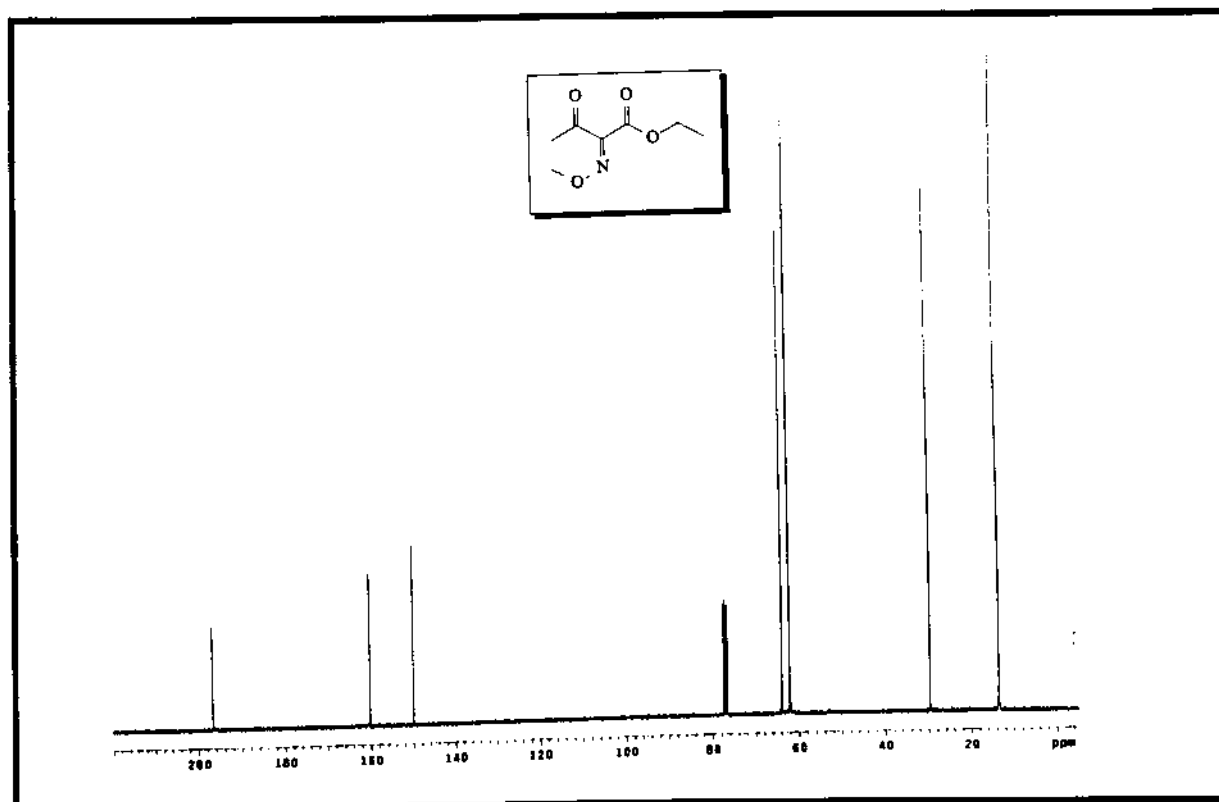
Espectro EM: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-26



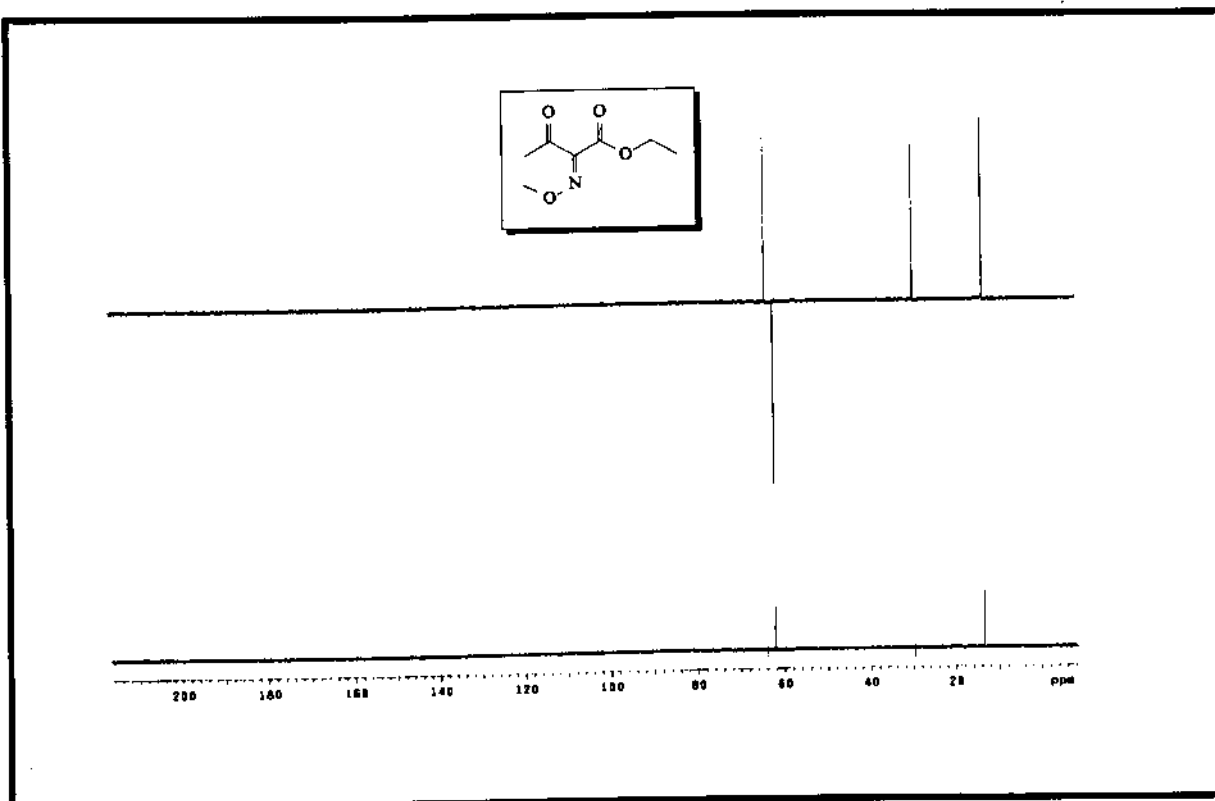
Espectro IV: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-26



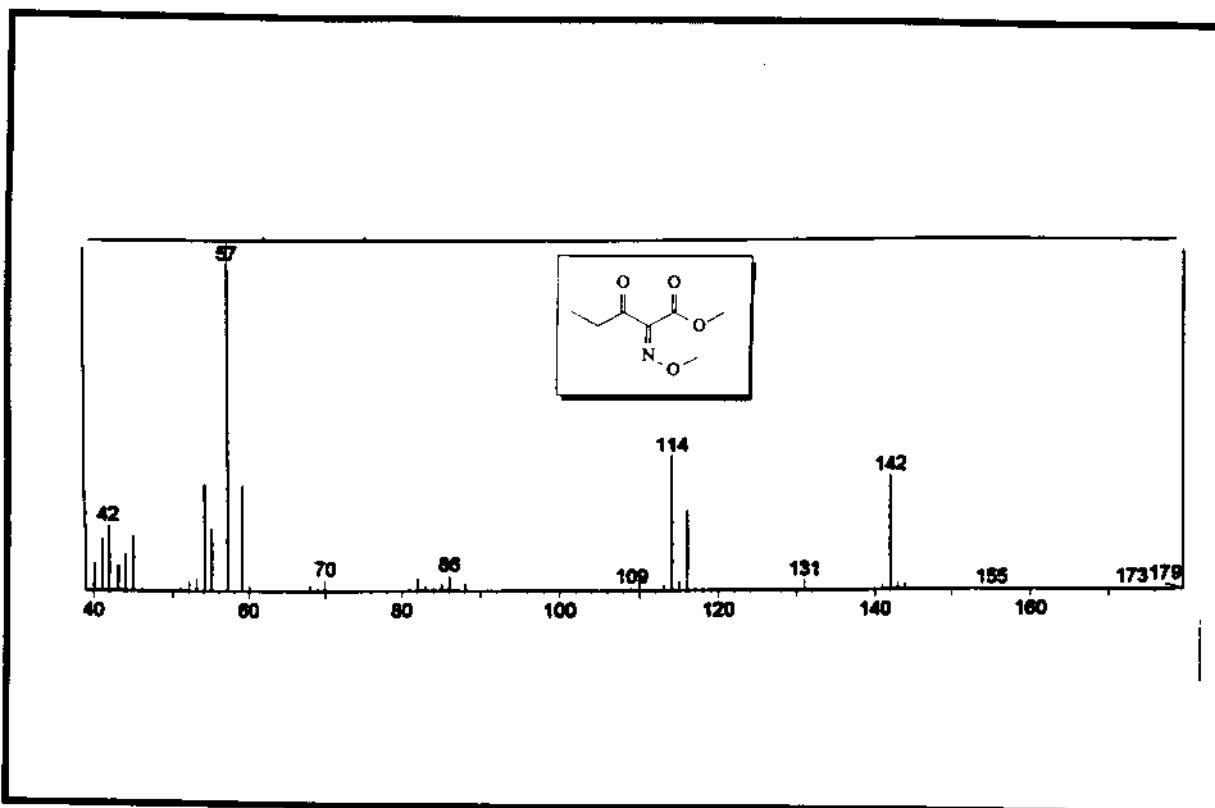
Espectro RMN-¹H: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-26



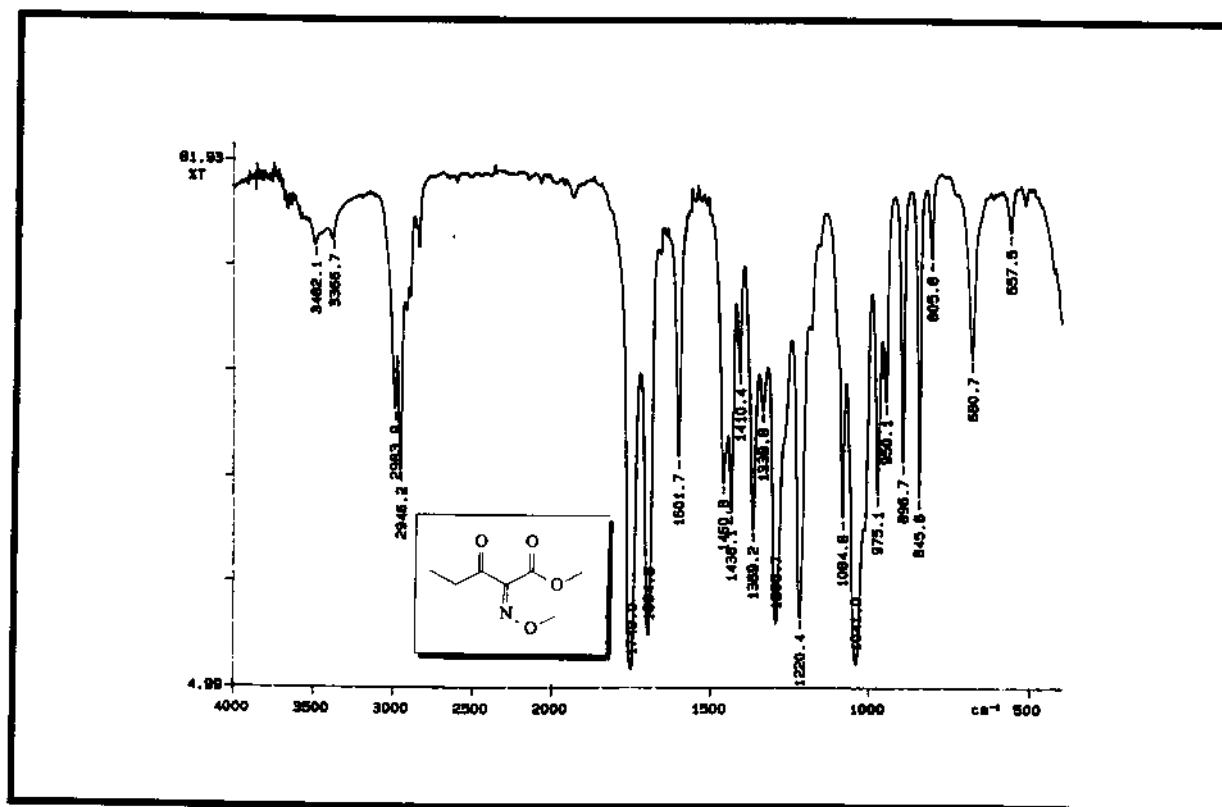
Espectro RMN- ^{13}C : (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-26



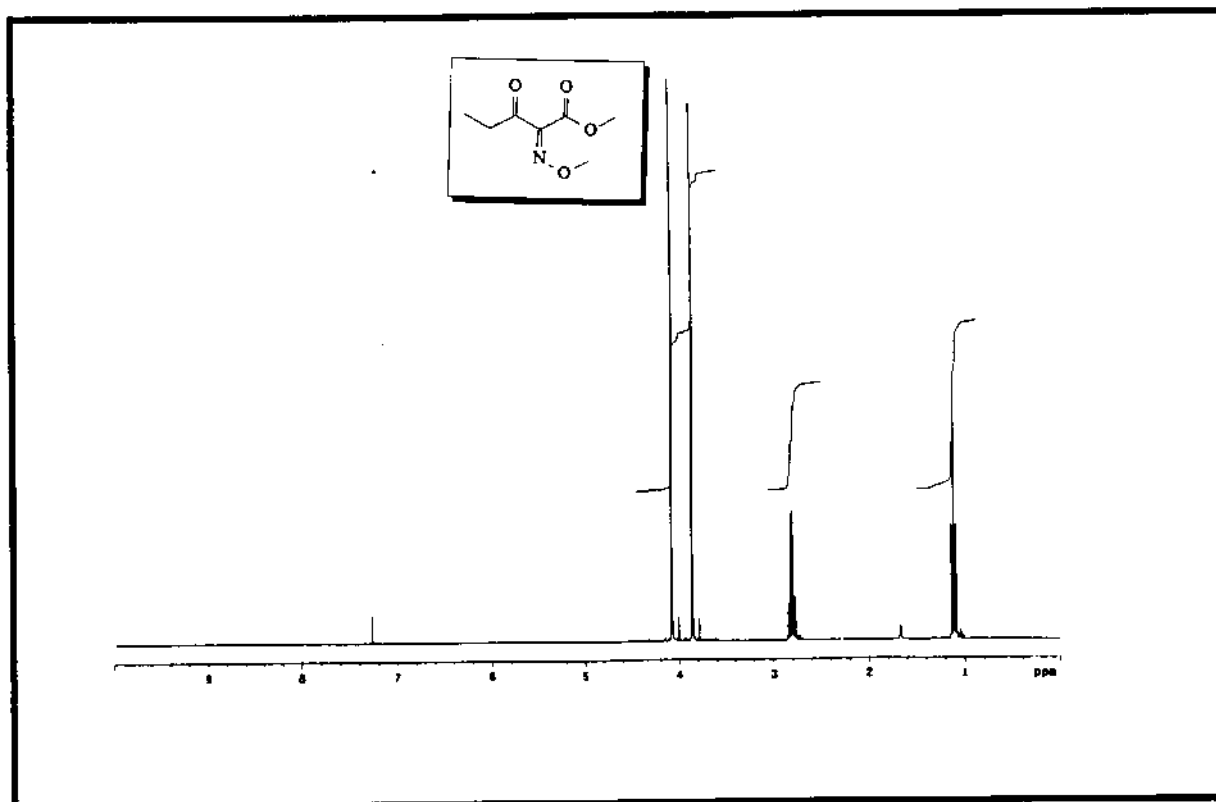
Espectro RMN- ^{13}C DEPT: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-26



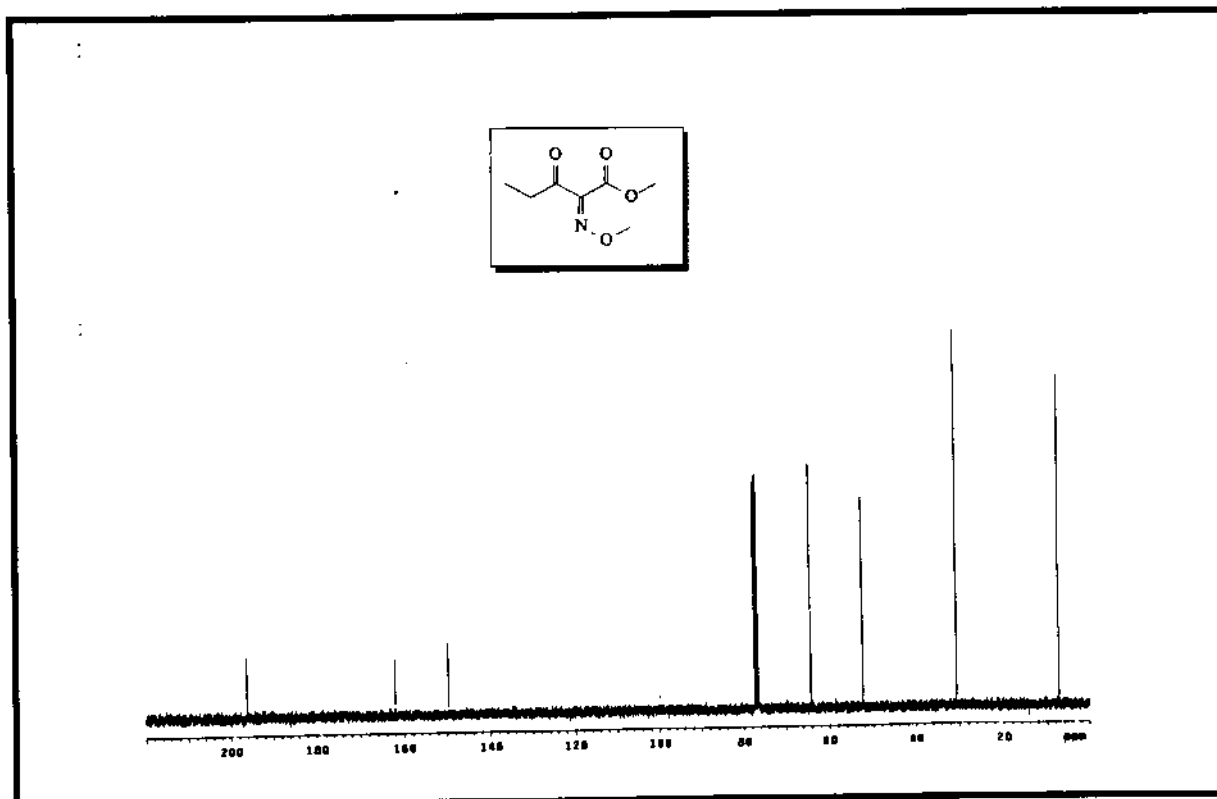
Espectro EM: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-27



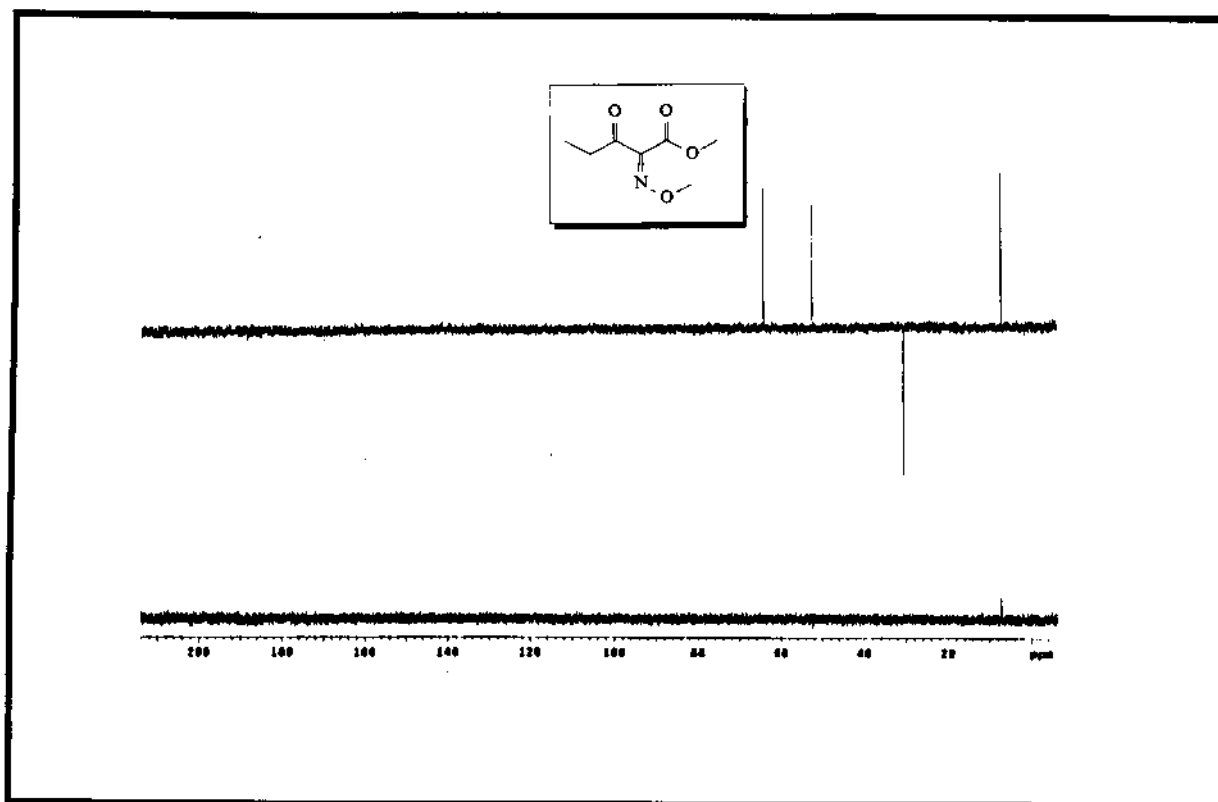
Espectro IV: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-27



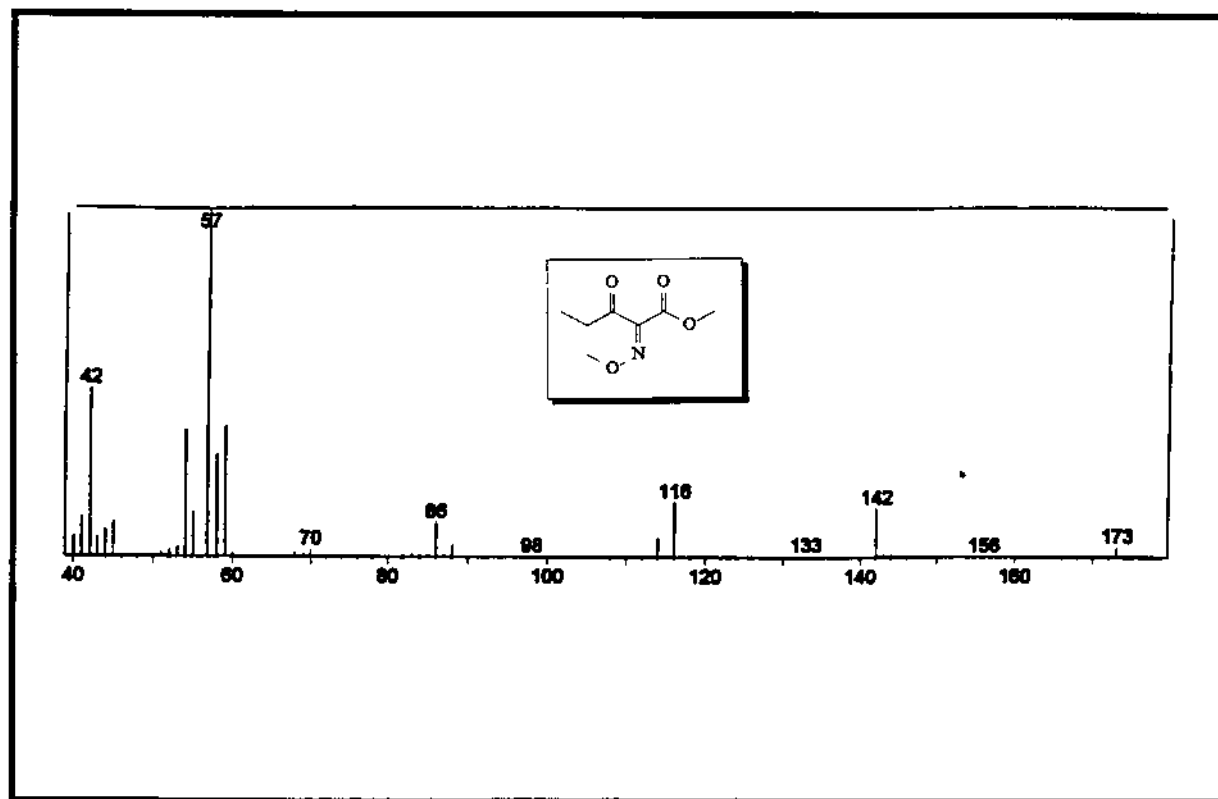
Espectro RMN- ^1H : (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-27



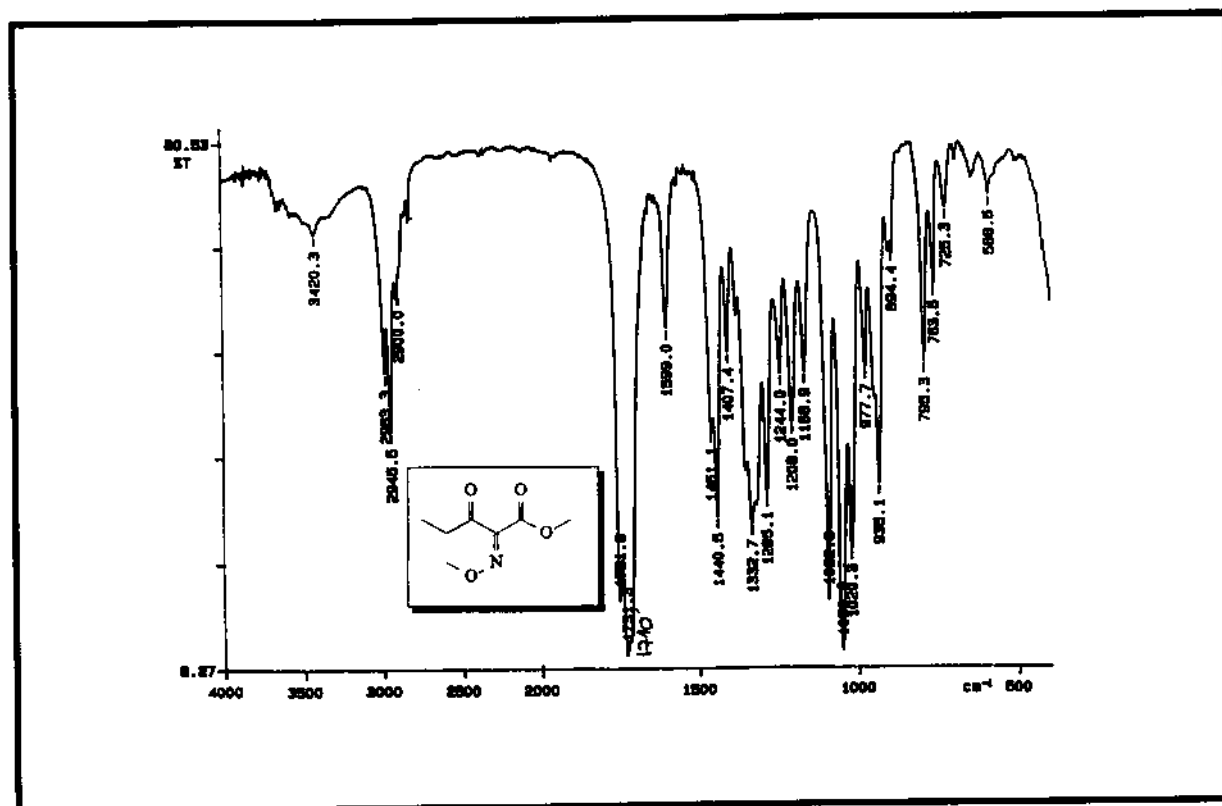
Espectro RMN- ^{13}C : (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-27



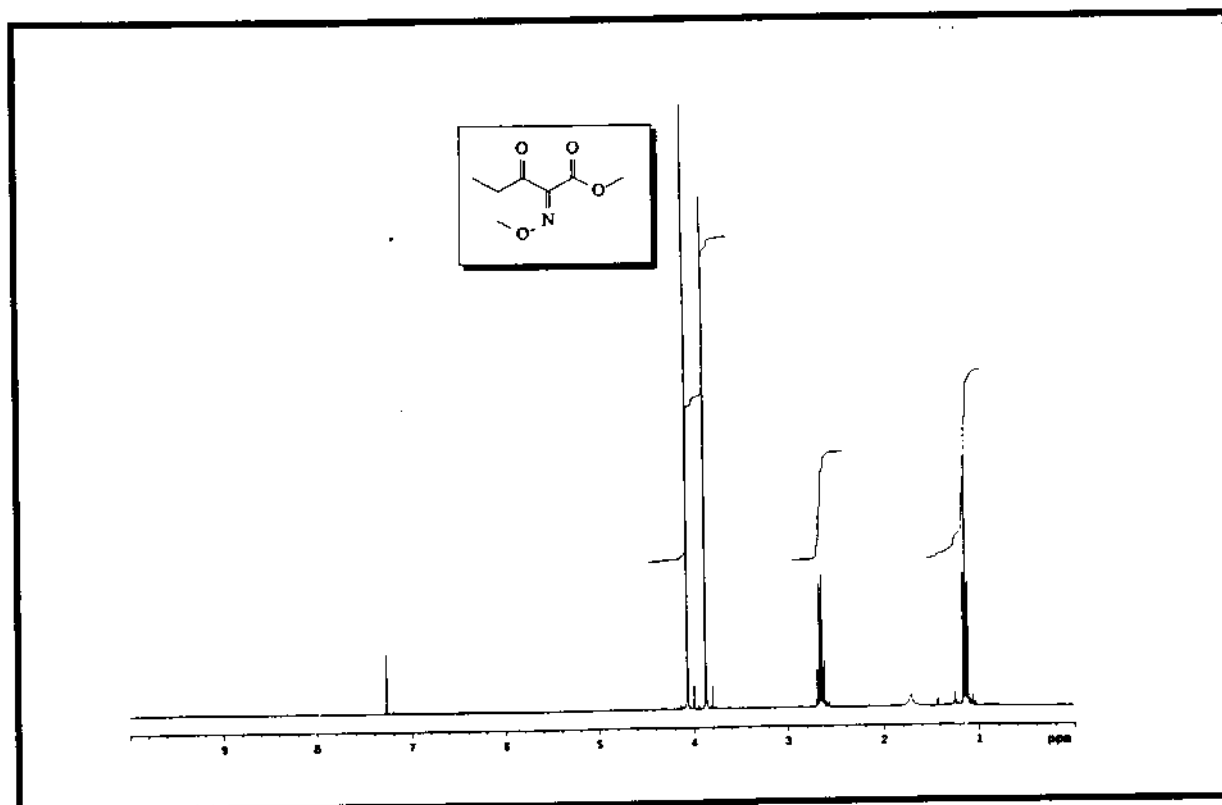
Espectro RMN-¹³C DEPT: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (Z)-27



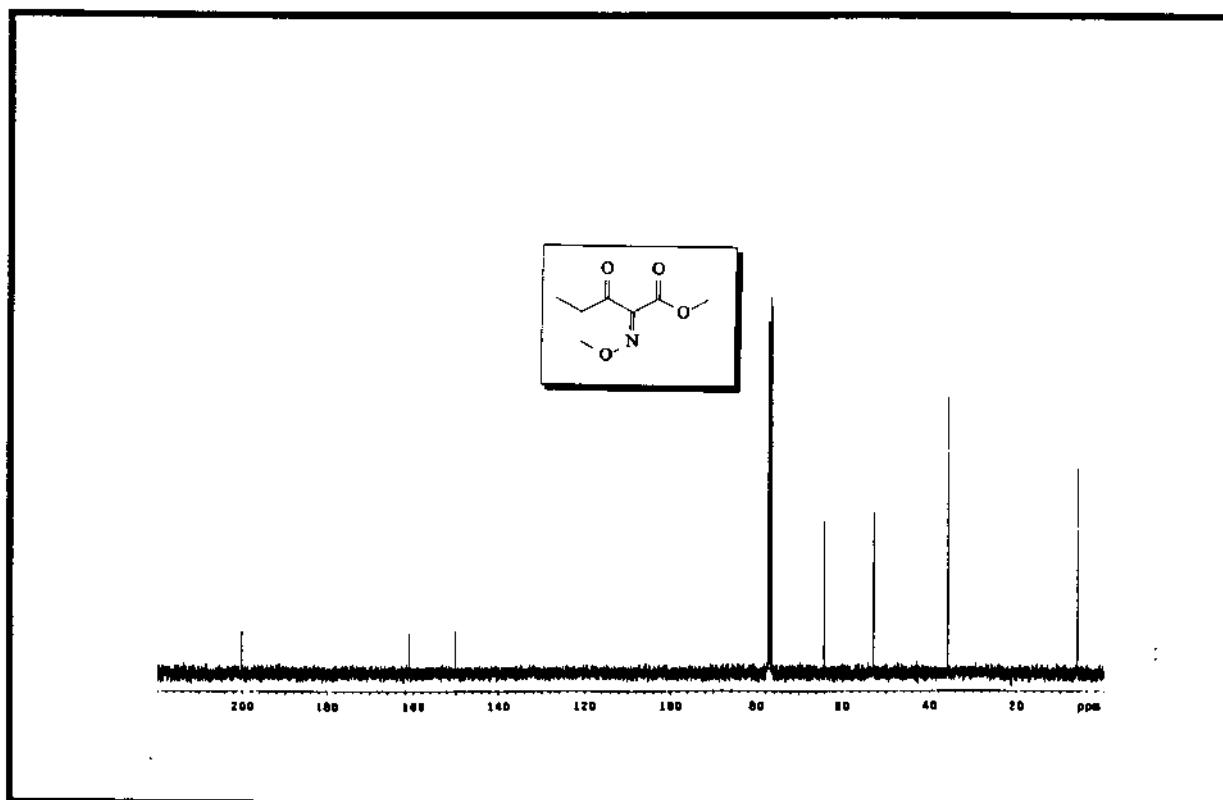
Espectro EM: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (E)-27



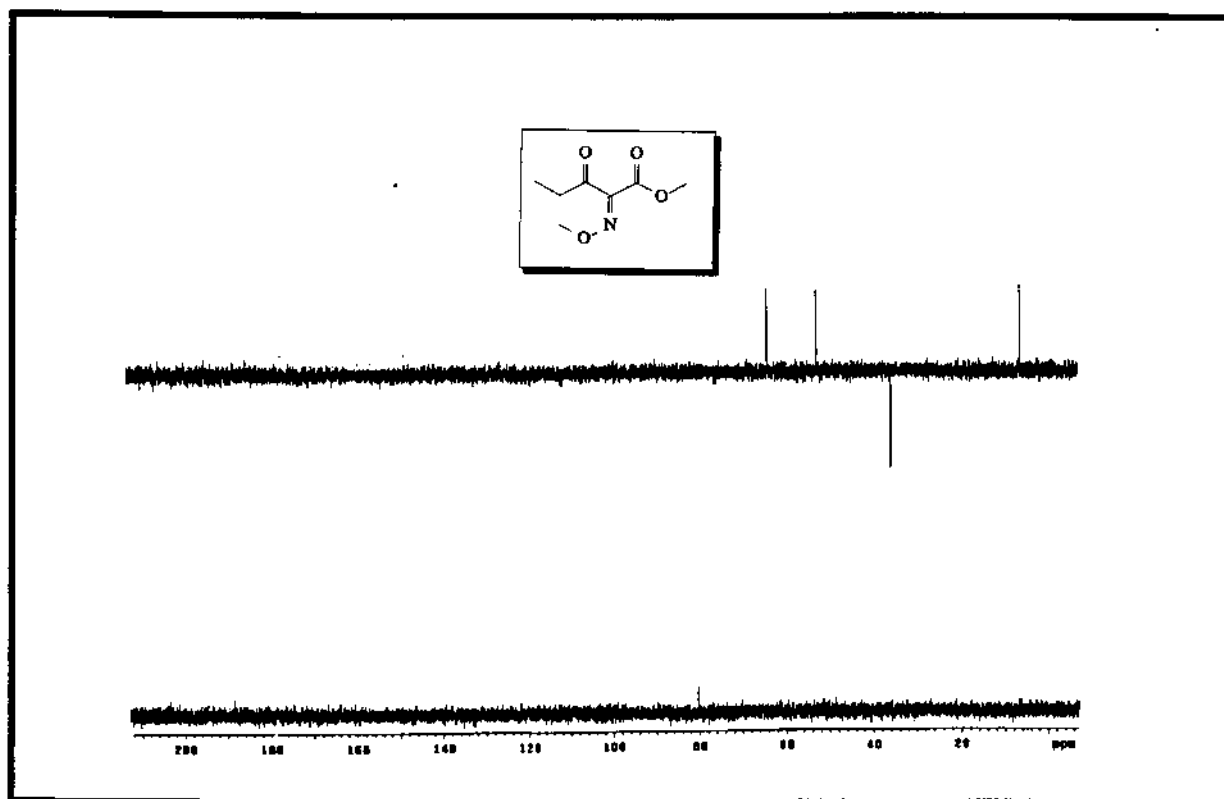
Espectro IV: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (E)-27



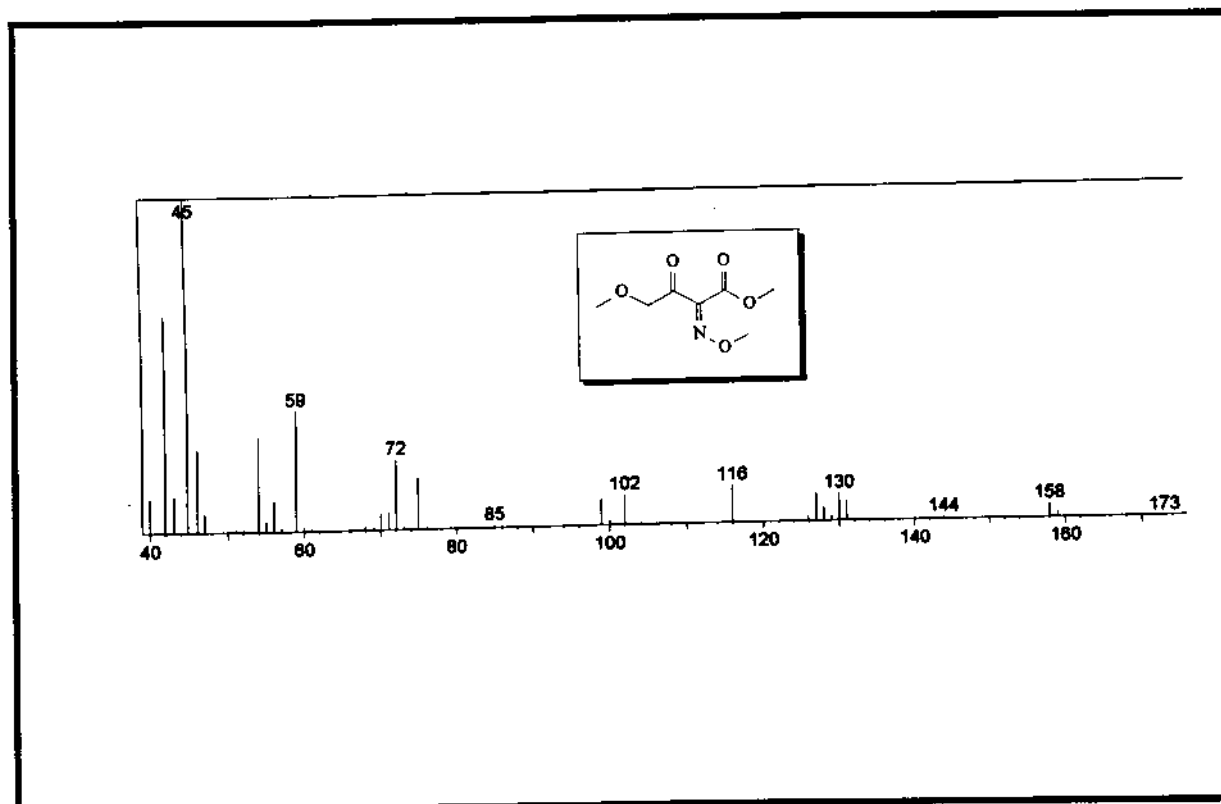
Espectro RMN-¹H: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (E)-27



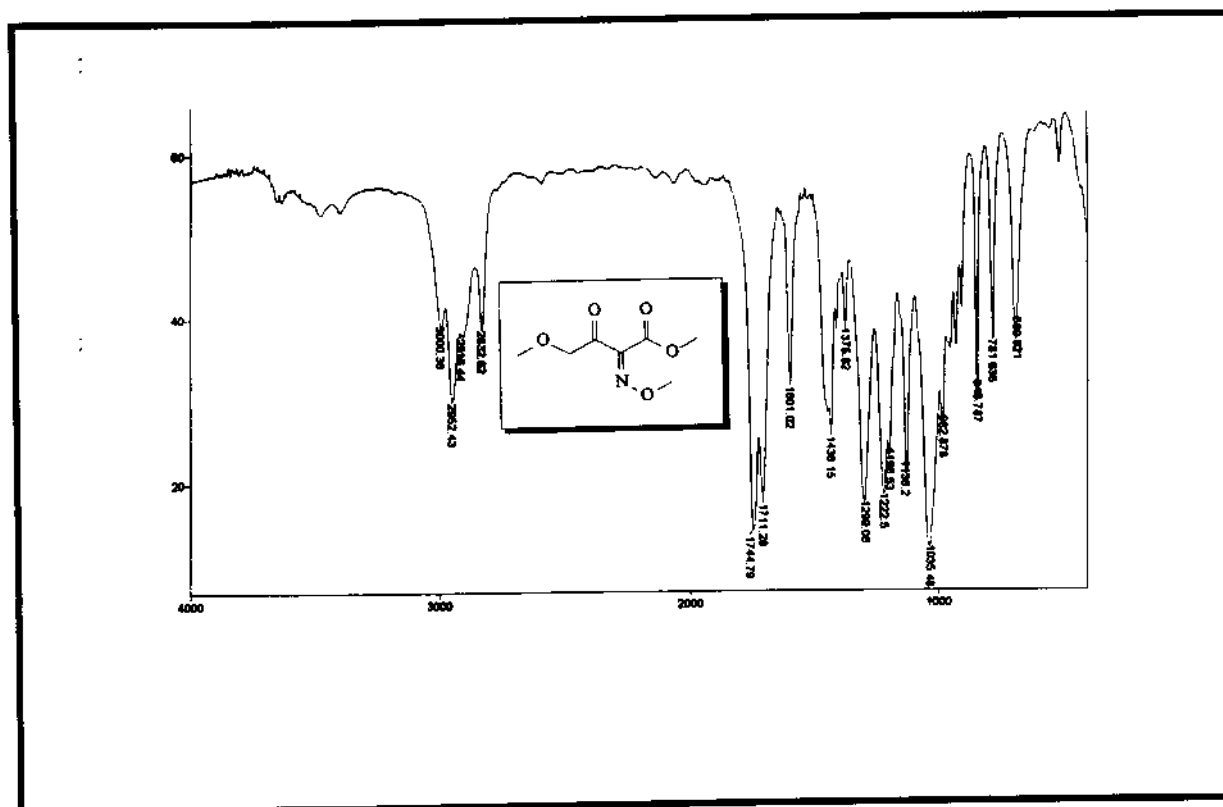
Espectro RMN- ^{13}C : (E)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (E)-27



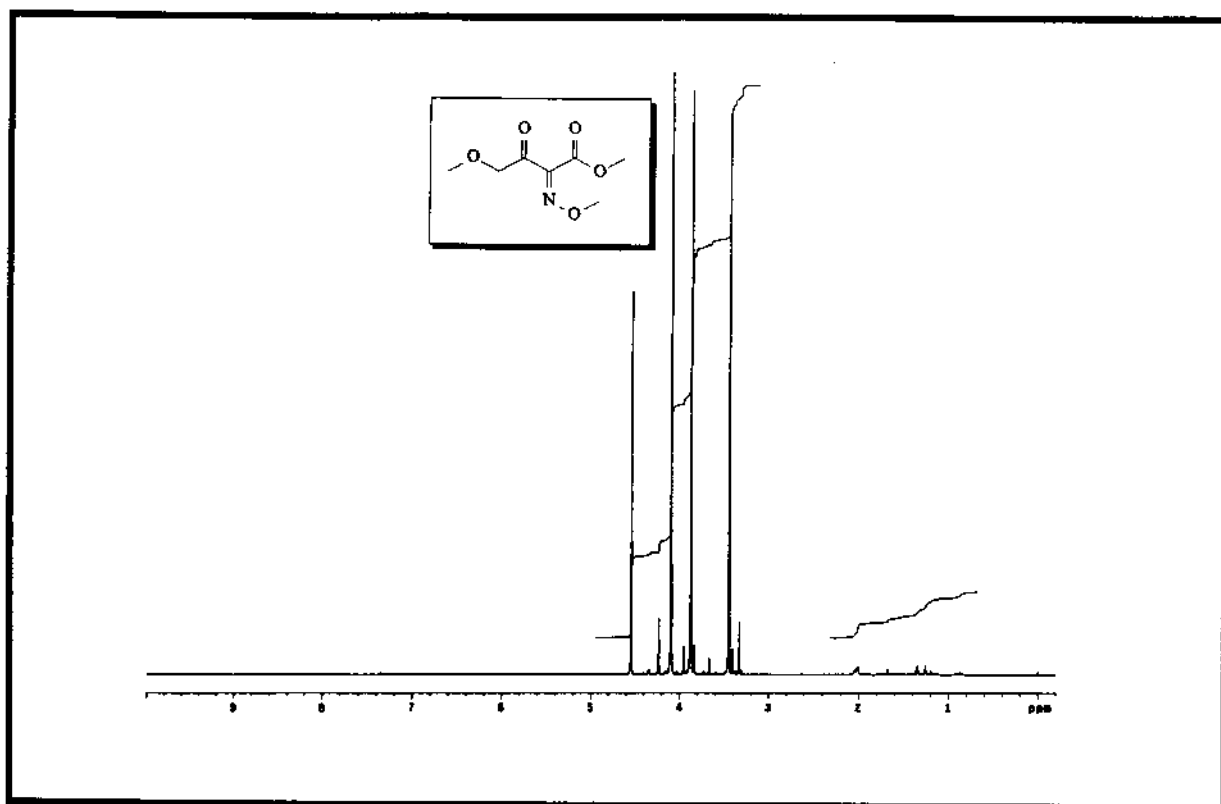
Espectro RMN- ^{13}C DEPT: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-pentanoato de metila, (E)-27



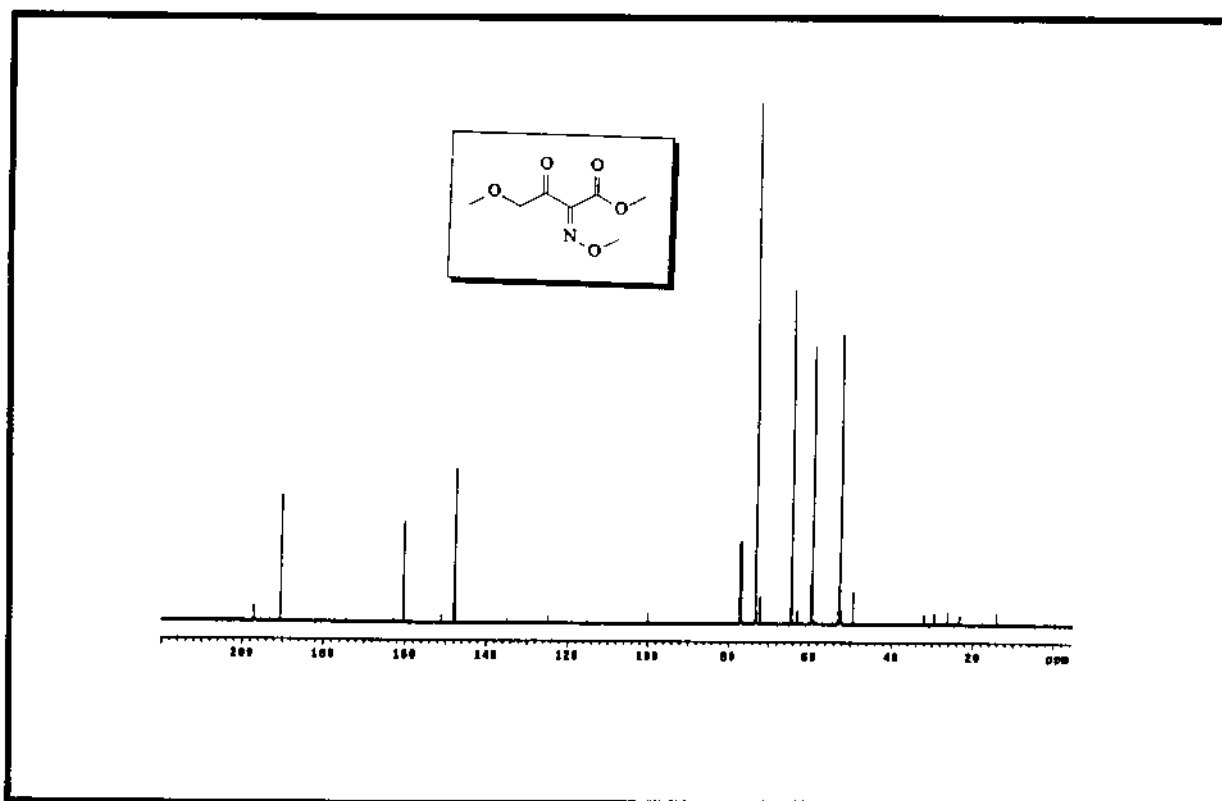
Espectro EM: (Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-28



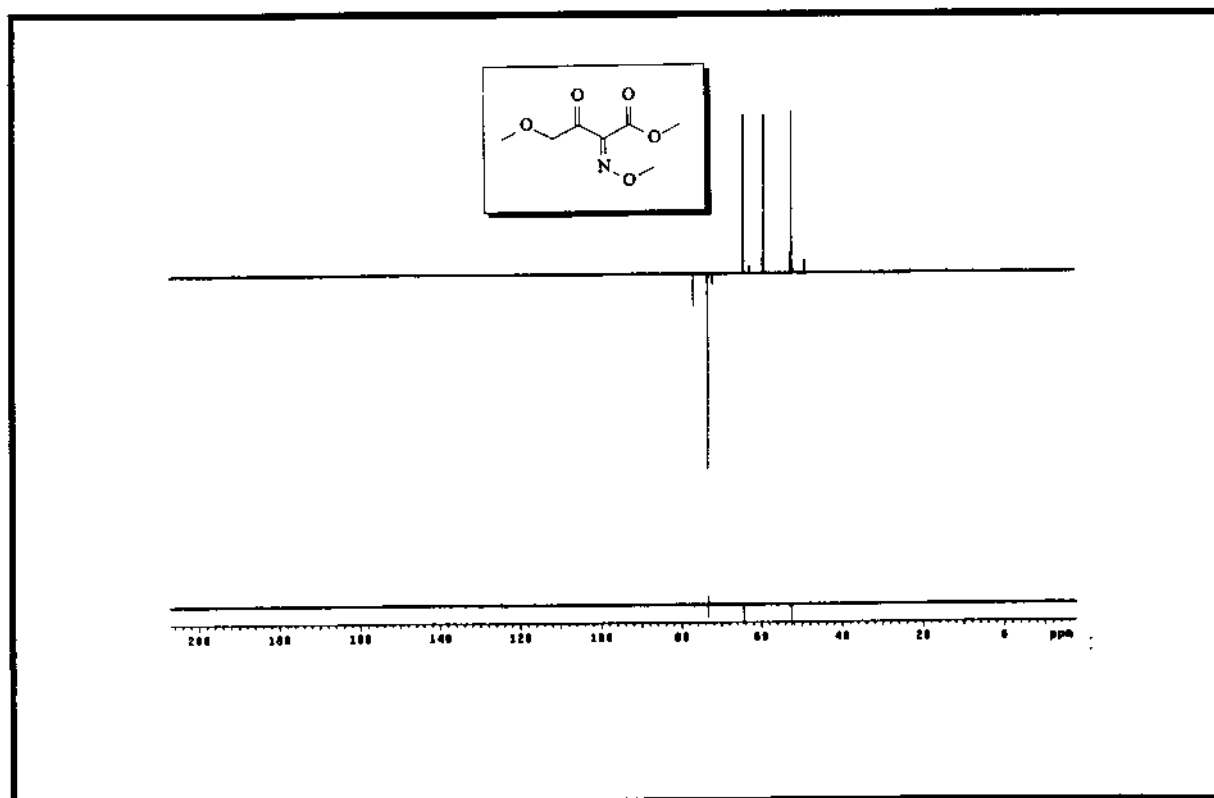
Espectro IV: (Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-28



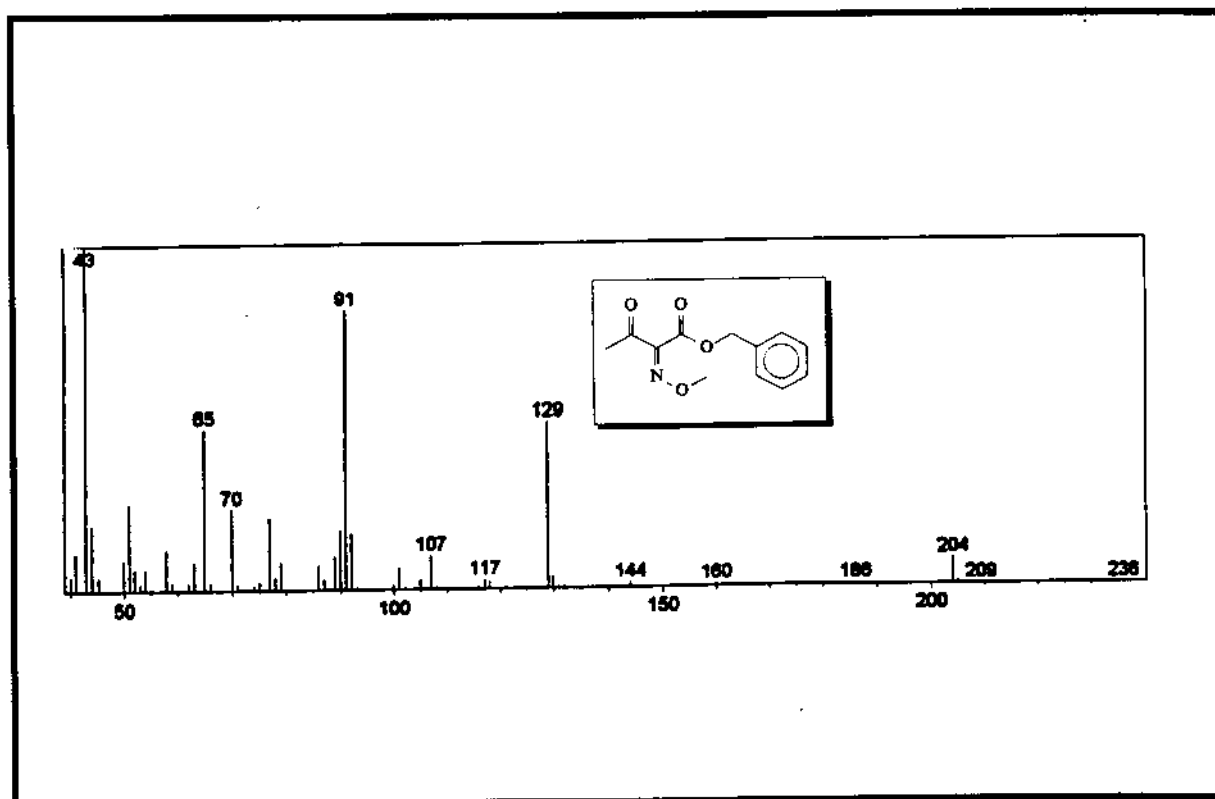
Espectro RMN- ^1H : (Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-28



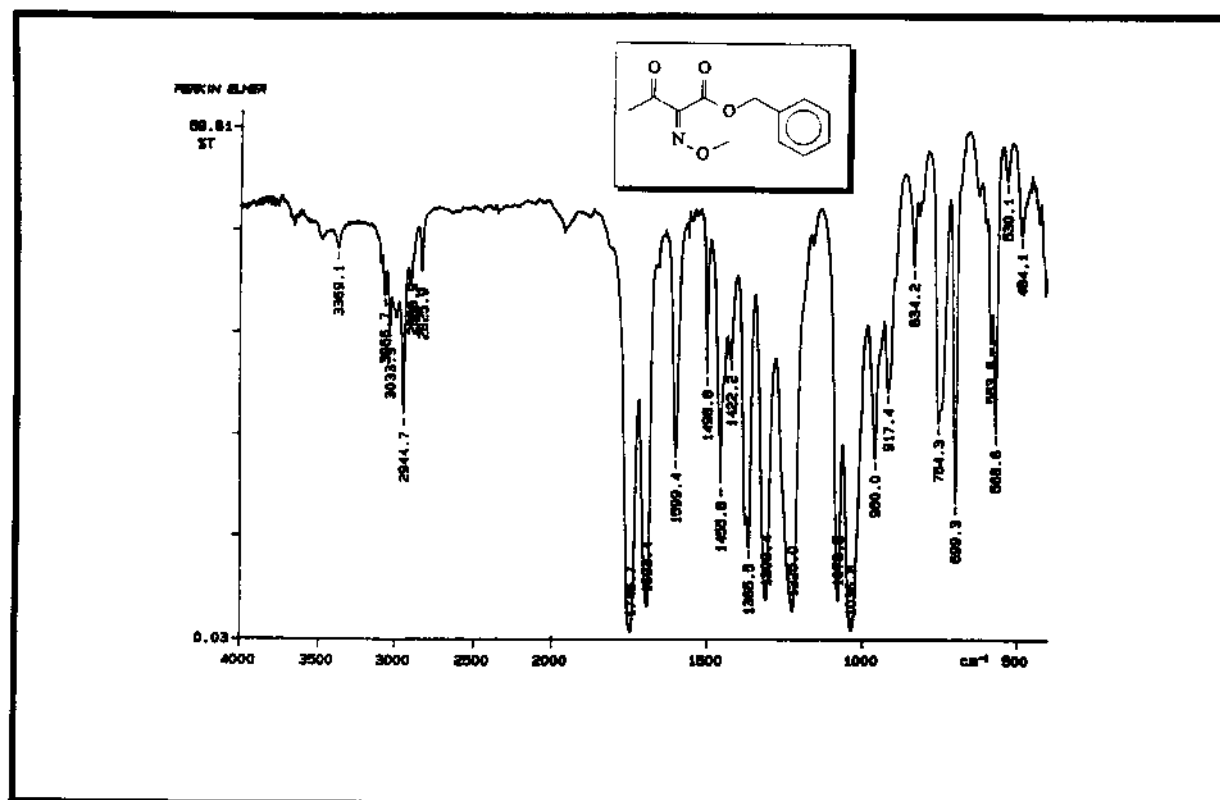
Espectro RMN- ^{13}C : (Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-28



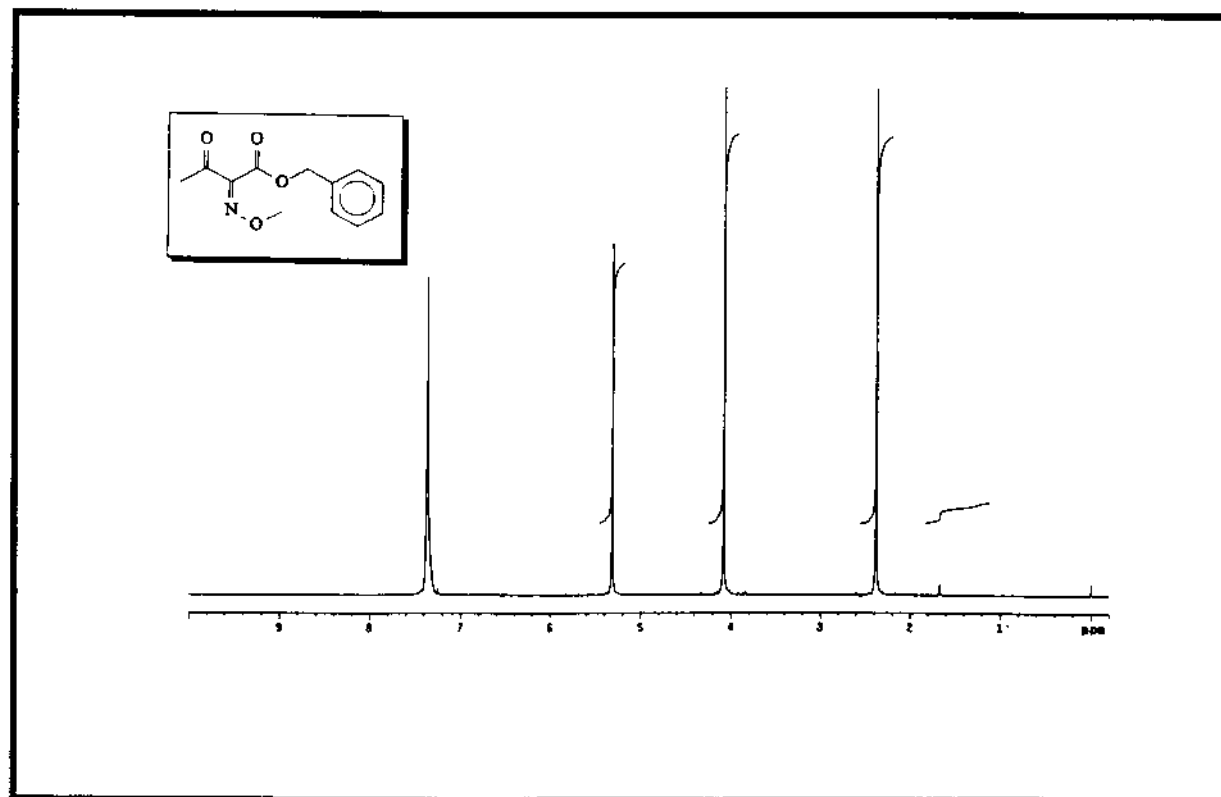
Espectro RMN-¹³C DEPT: (Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-3-oxo-butanoato de metila, (Z)-28



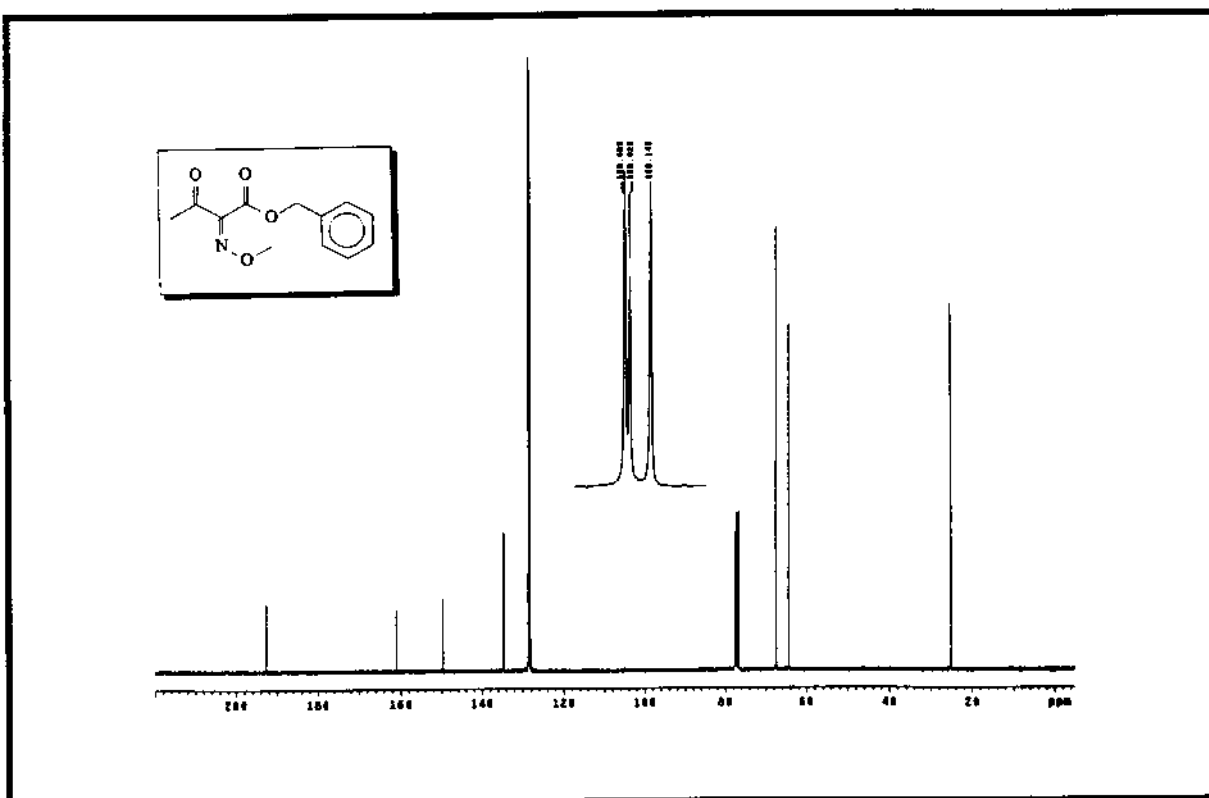
Espectro EM: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-29



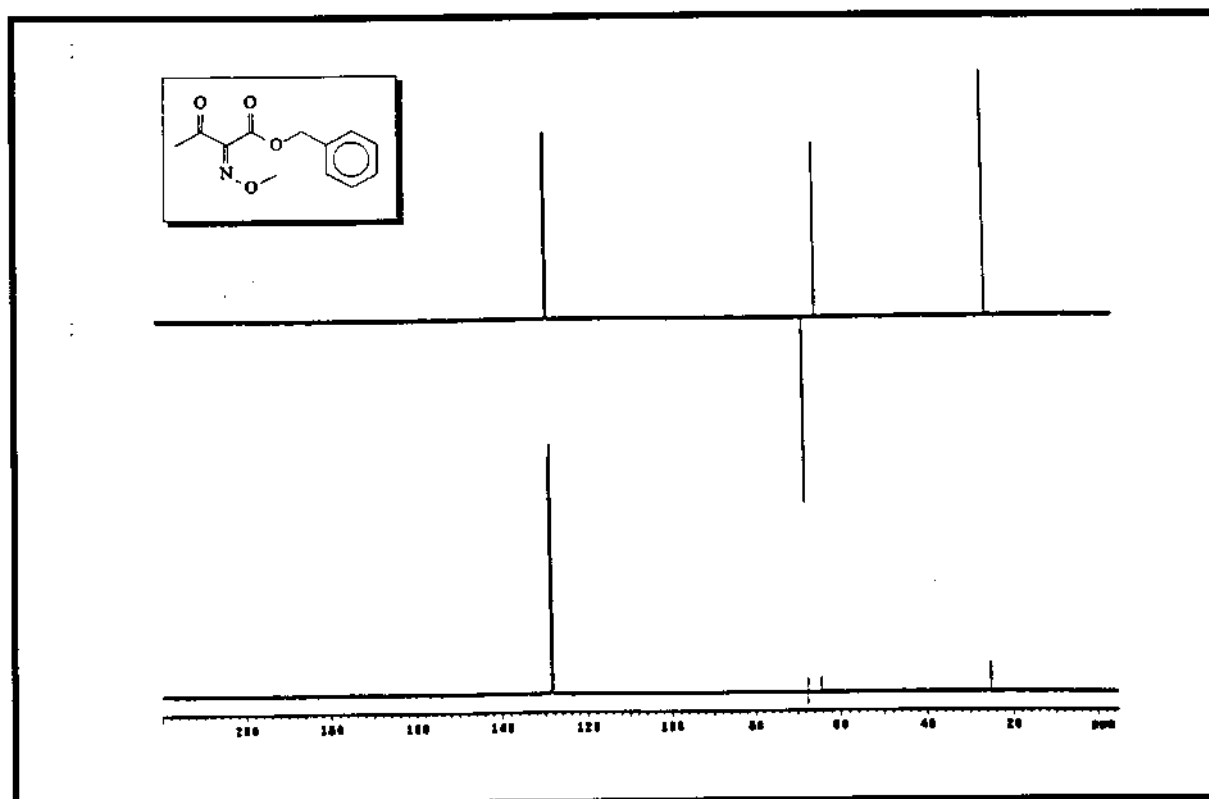
Espectro IV: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-29



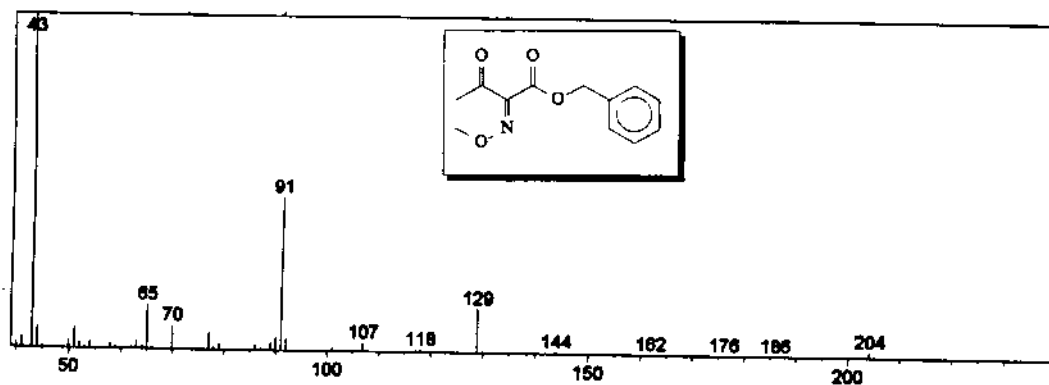
Espectro RMN- ^1H : (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-29



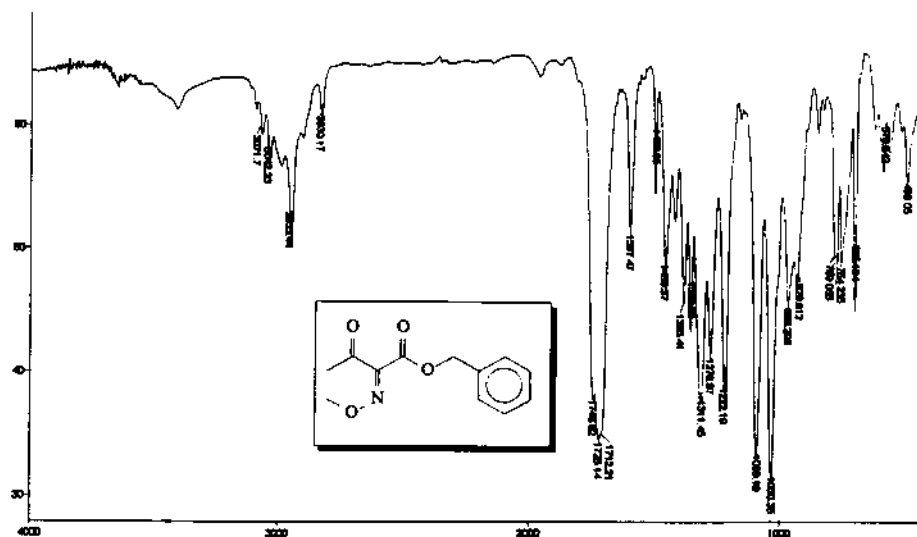
Espectro RMN- ^{13}C : (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-29



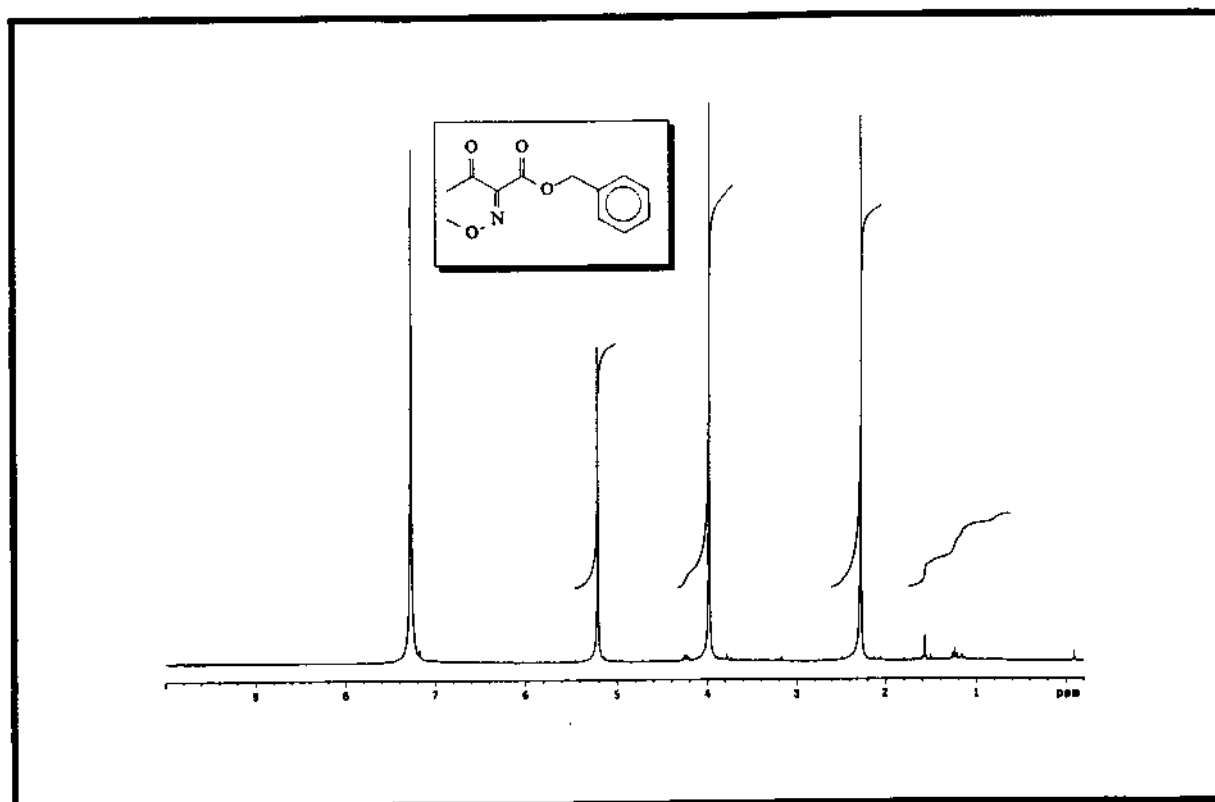
Espectro RMN- ^{13}C DEPT: (Z)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (Z)-29



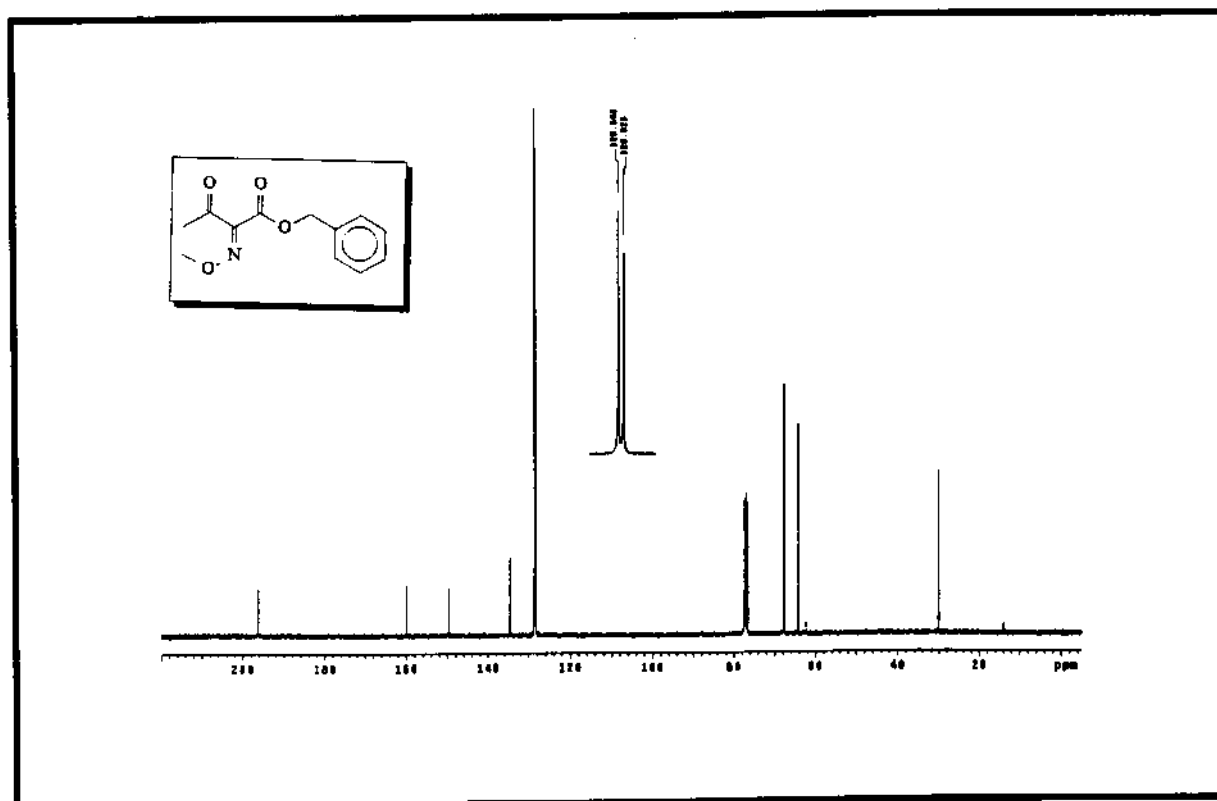
Espectro EM: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (E)-29



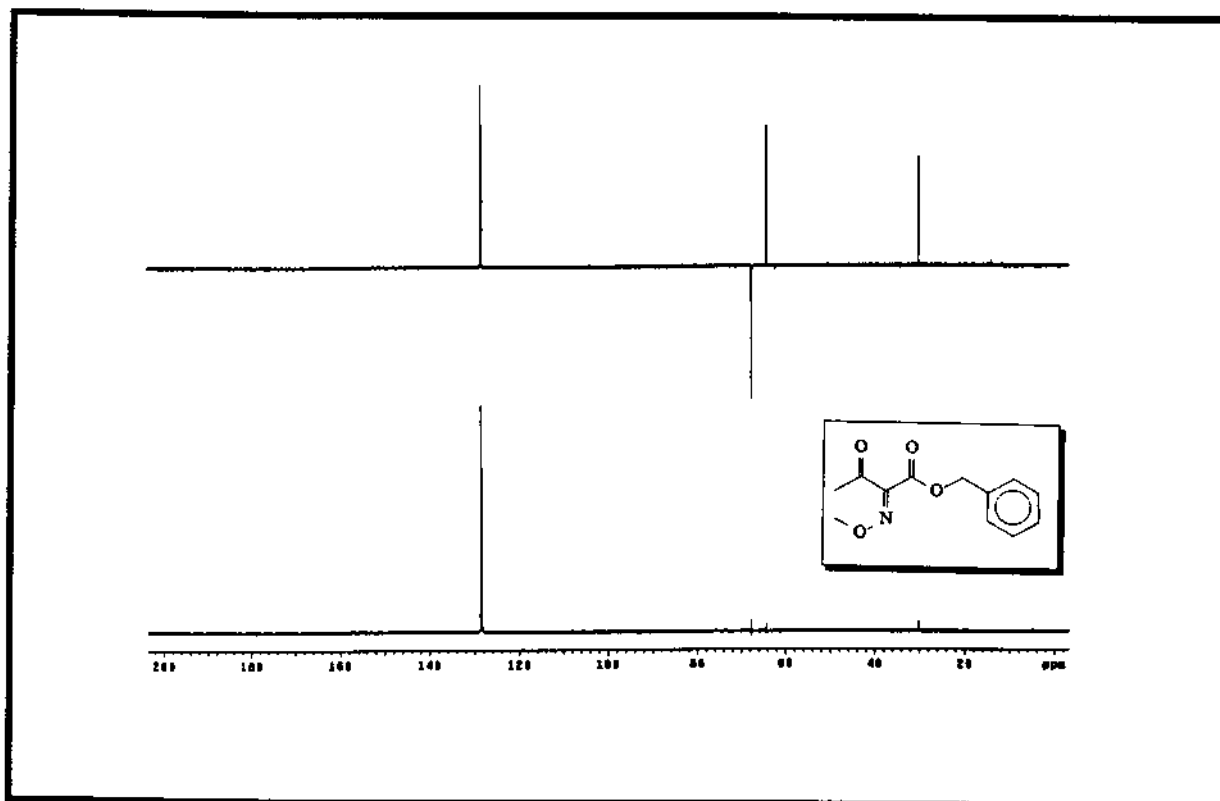
Espectro IV: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (E)-29



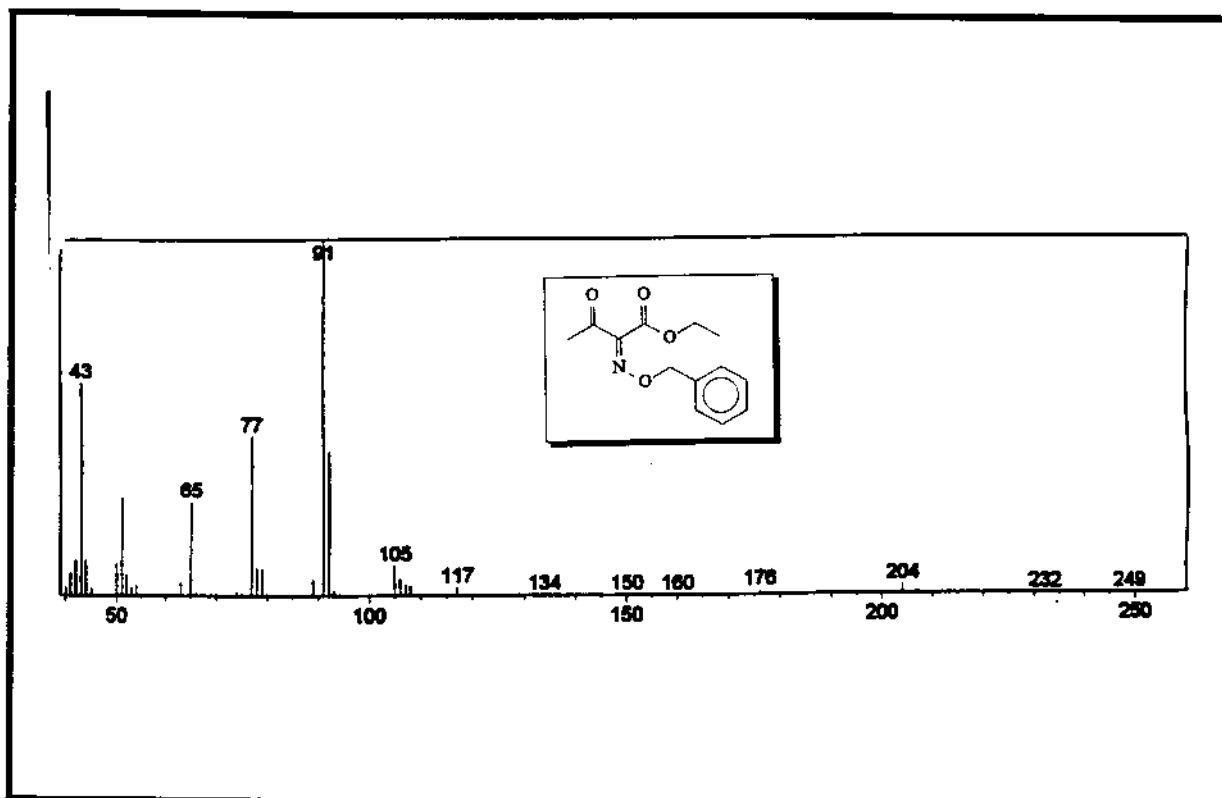
Espectro RMN- ^1H : (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (E)-29



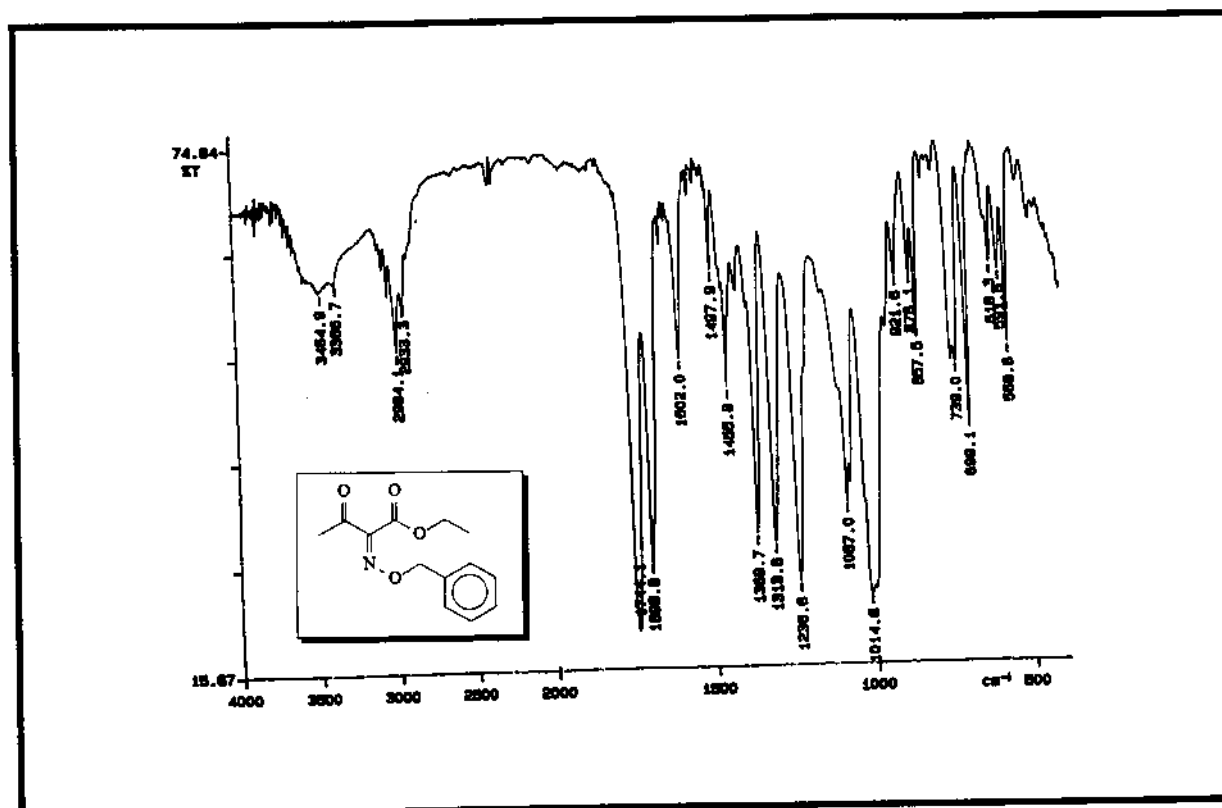
Espectro RMN- ^{13}C : (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (E)-29



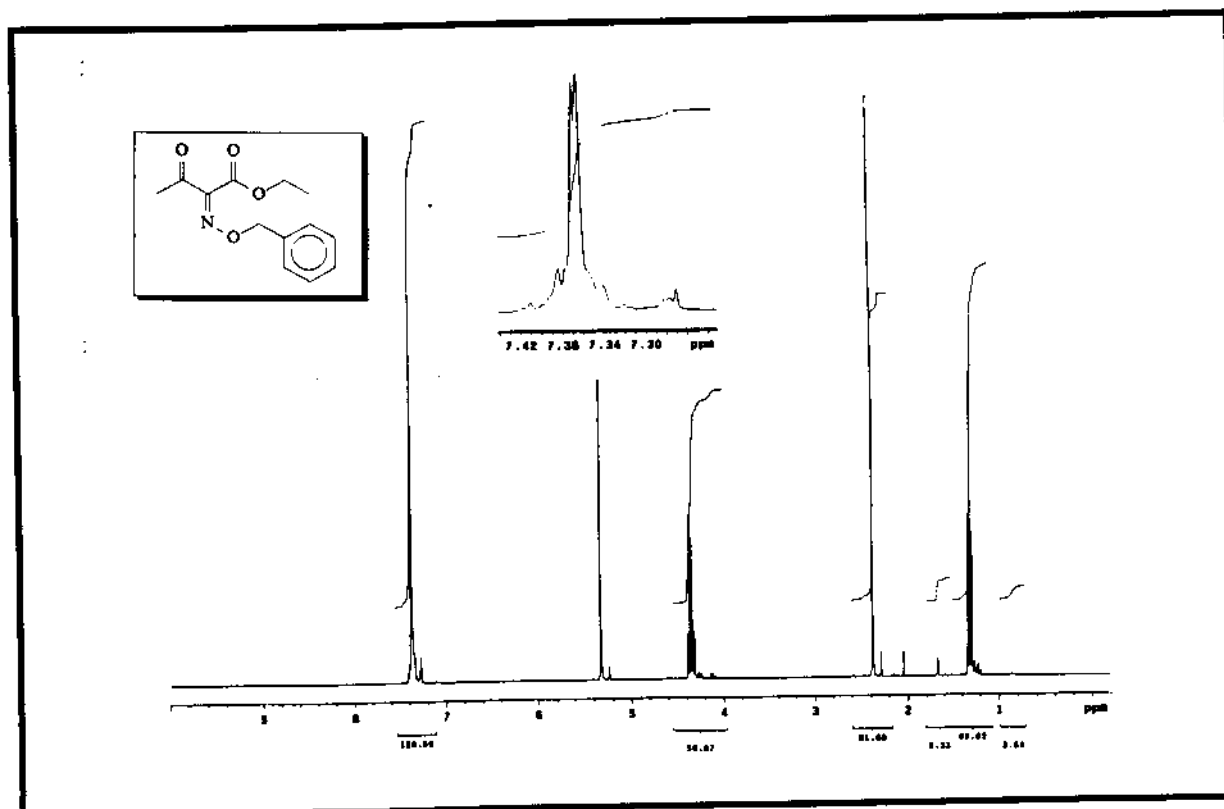
Espectro RMN-¹³C DEPT: (E)-2-metoxilimino-3-oxo-butanoato de benzila, (E)-29



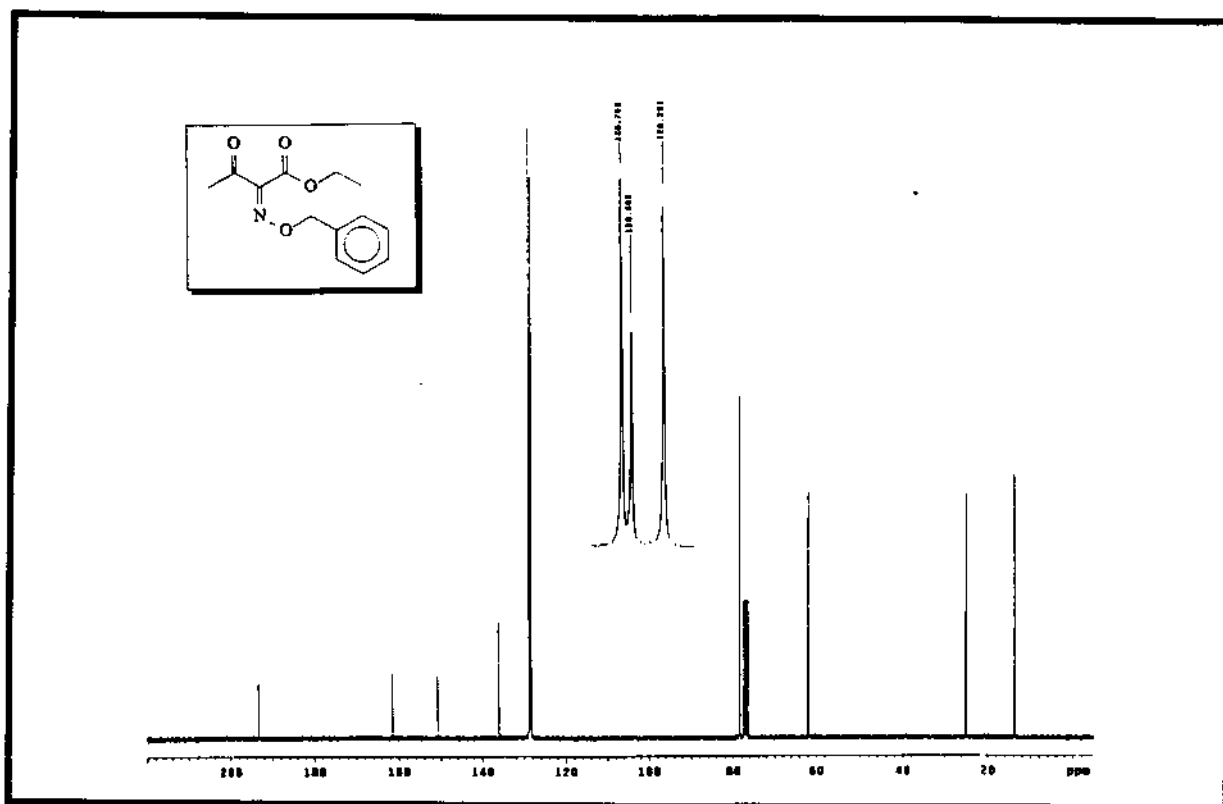
Espectro EM: (Z)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-30



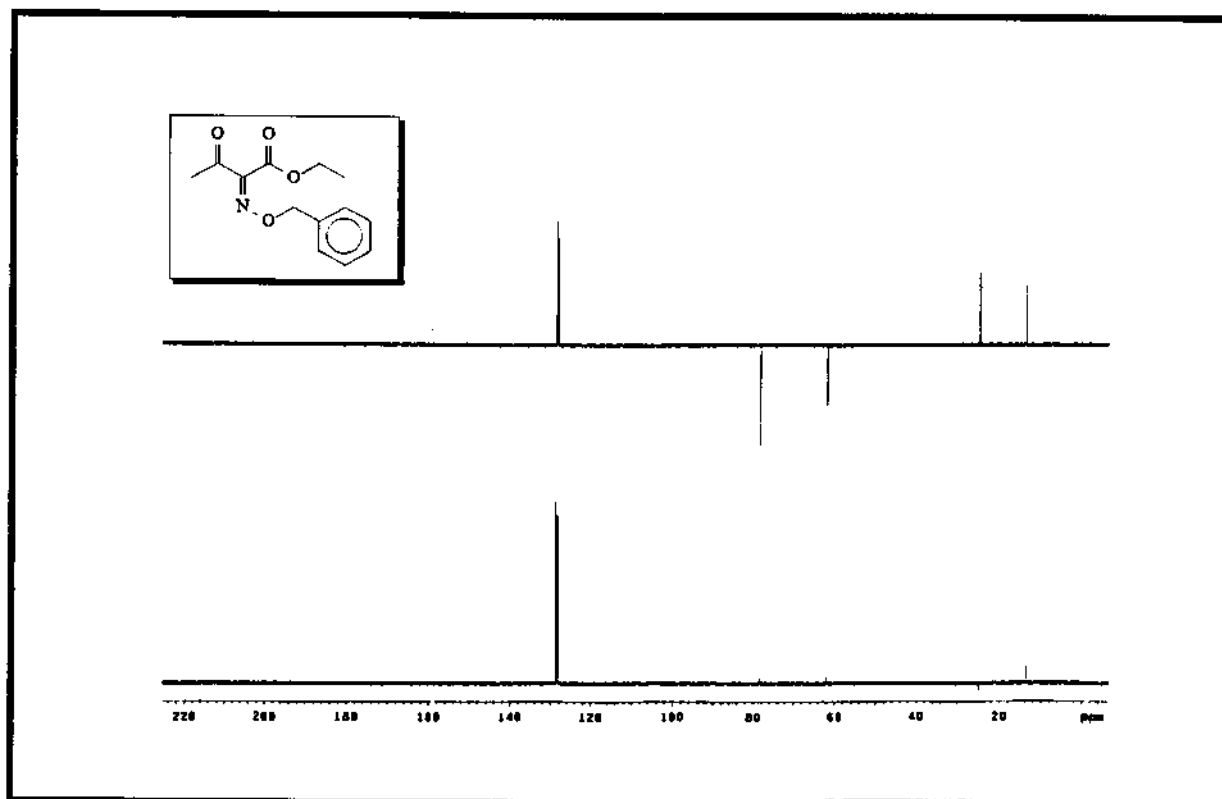
Espectro IV: (Z)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-30



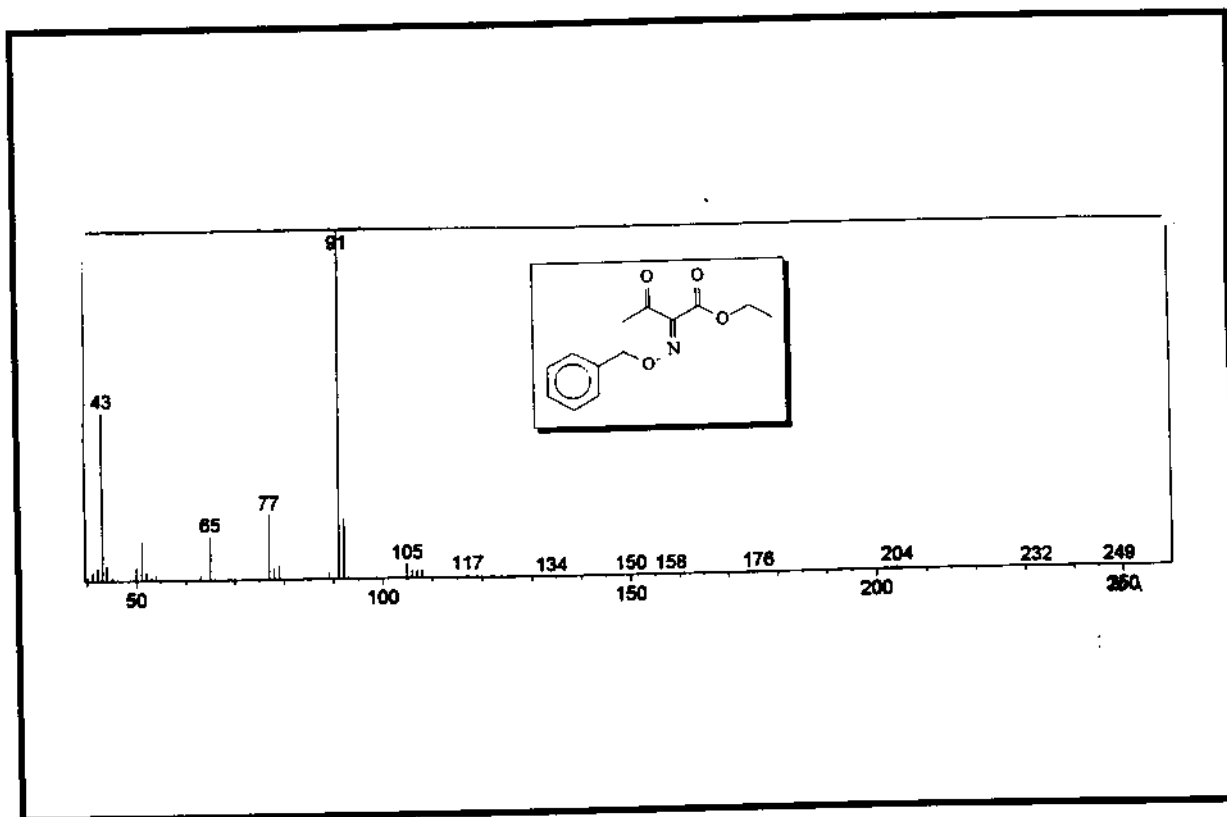
Espectro RMN- ^1H : (Z)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-30



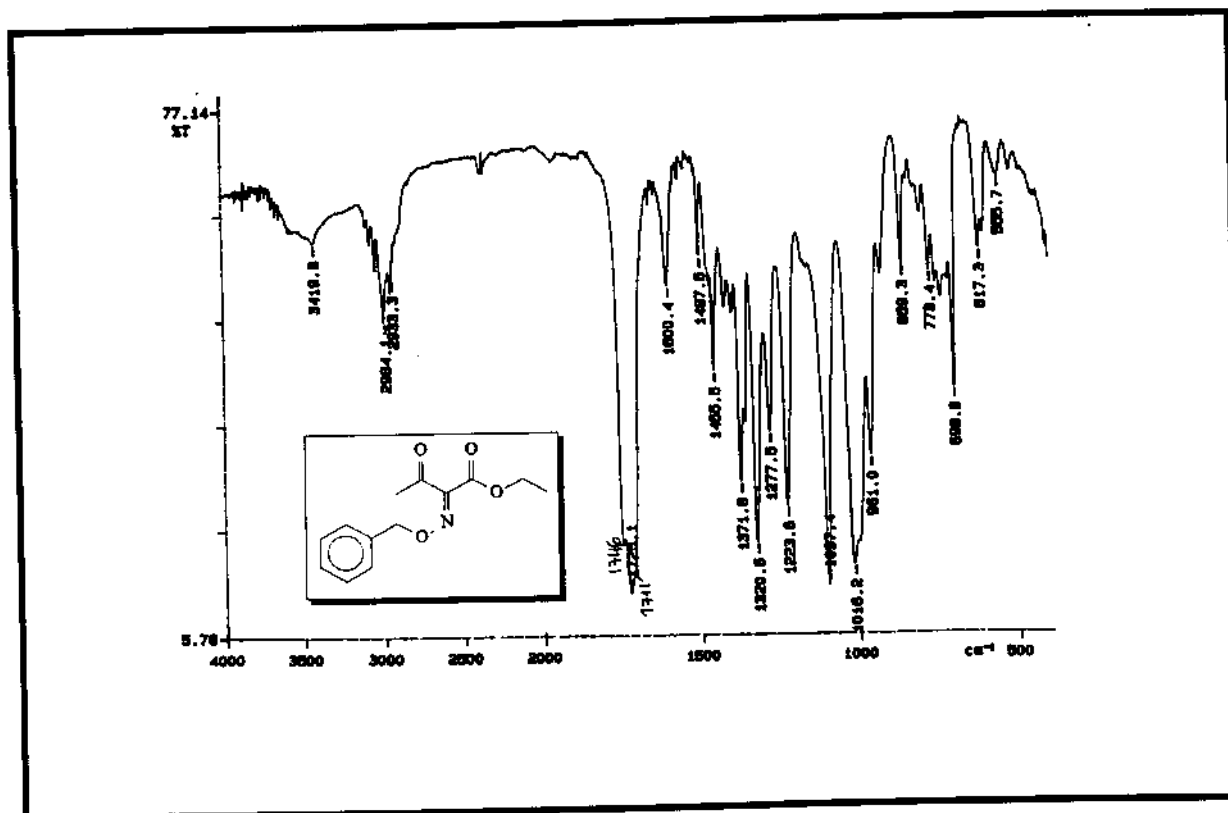
Espectro RMN-¹³C: (Z)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-30



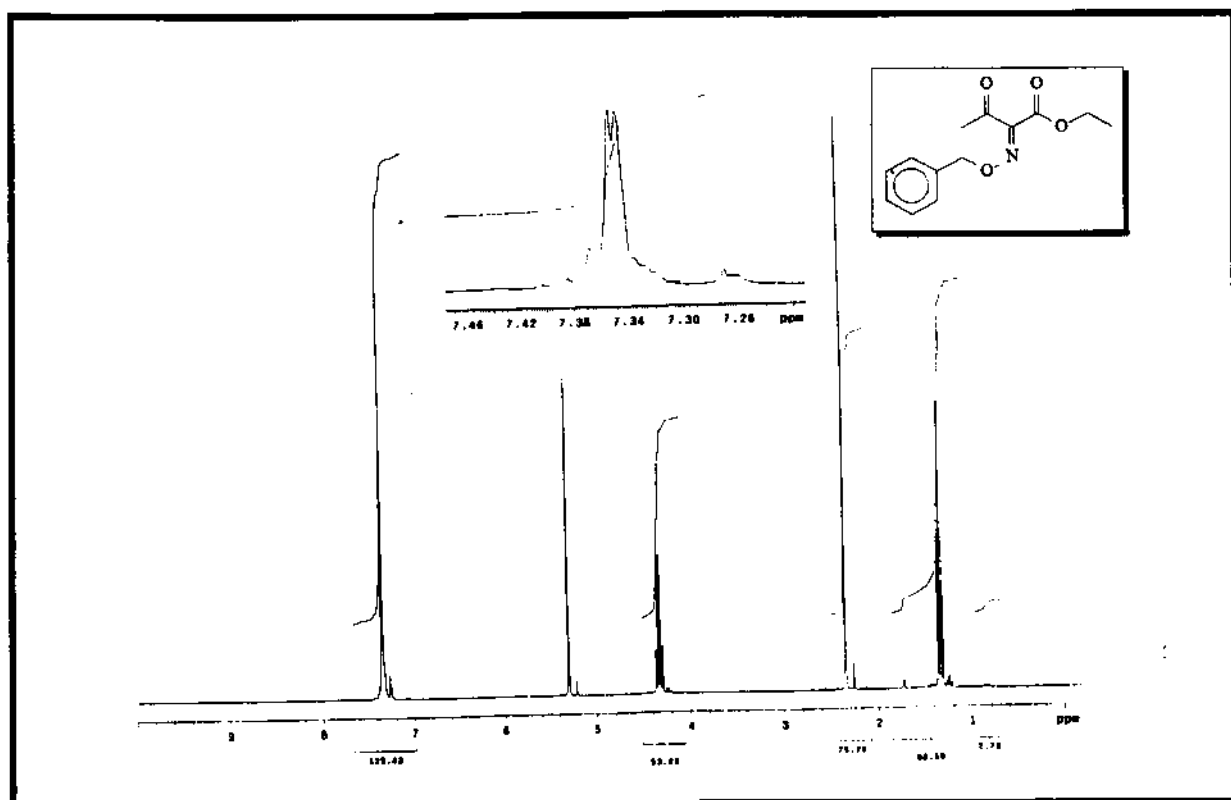
Espectro RMN-¹³C DEPT: (Z)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-30



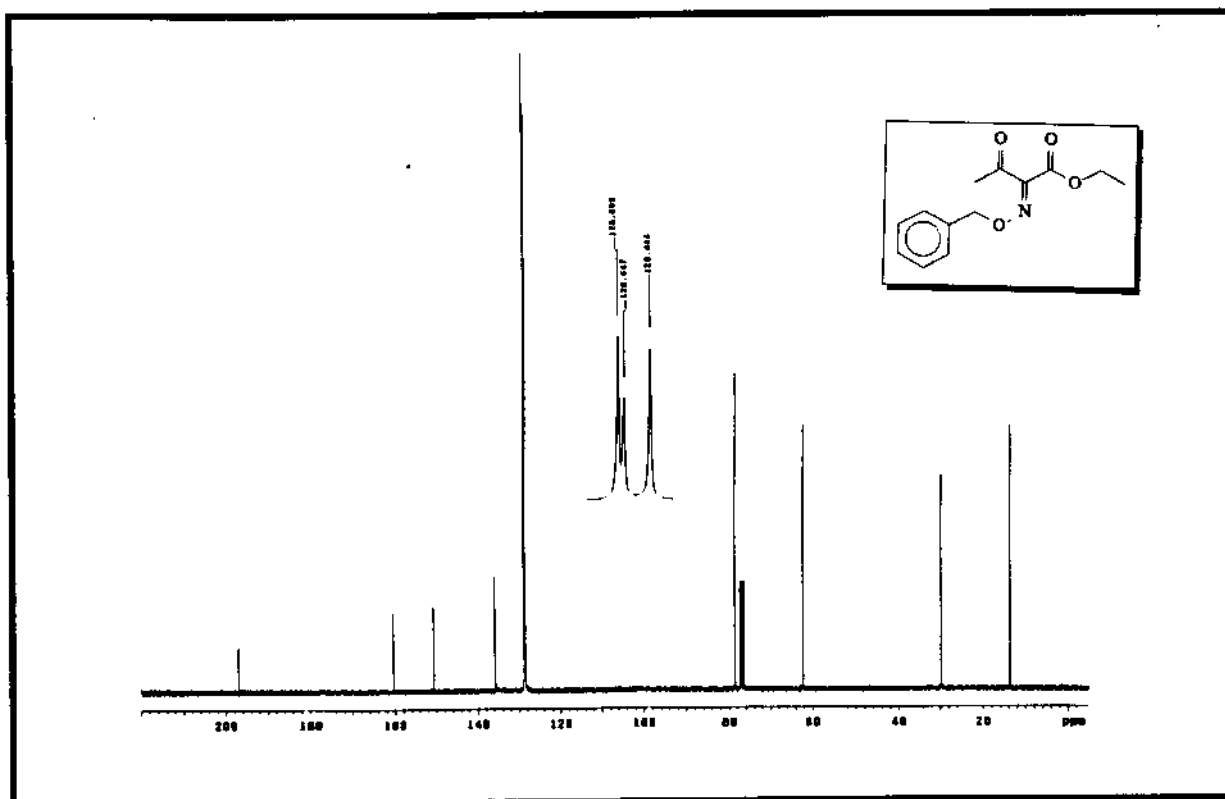
Espectro EM: (E)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-30



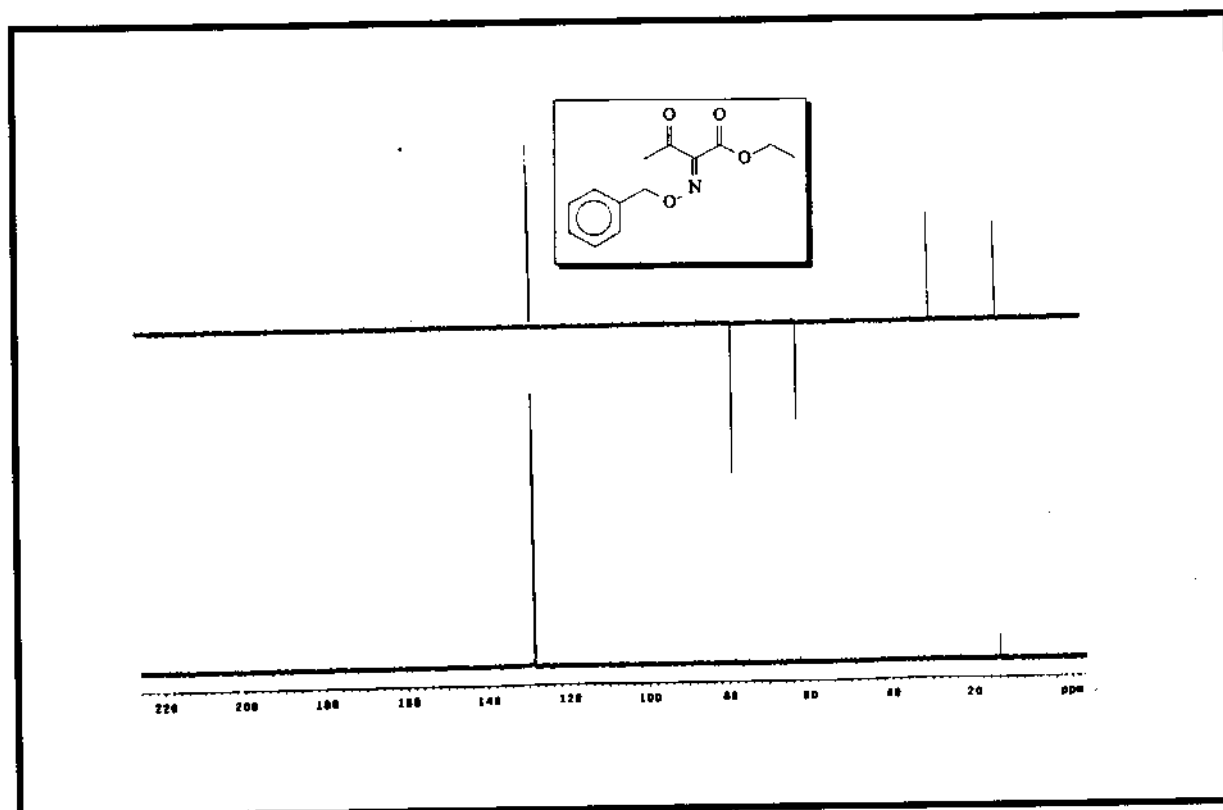
Espectro IV: (E)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-30



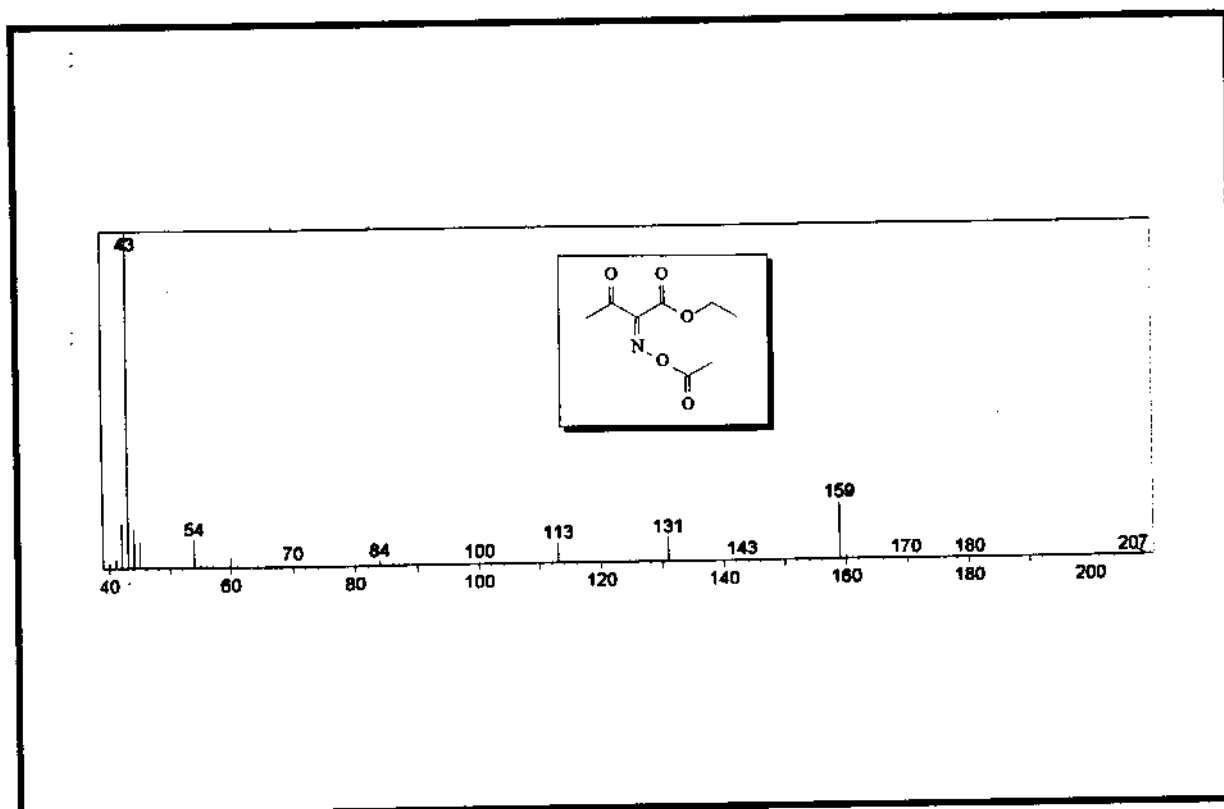
Espectro RMN- ^1H : (E)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-30



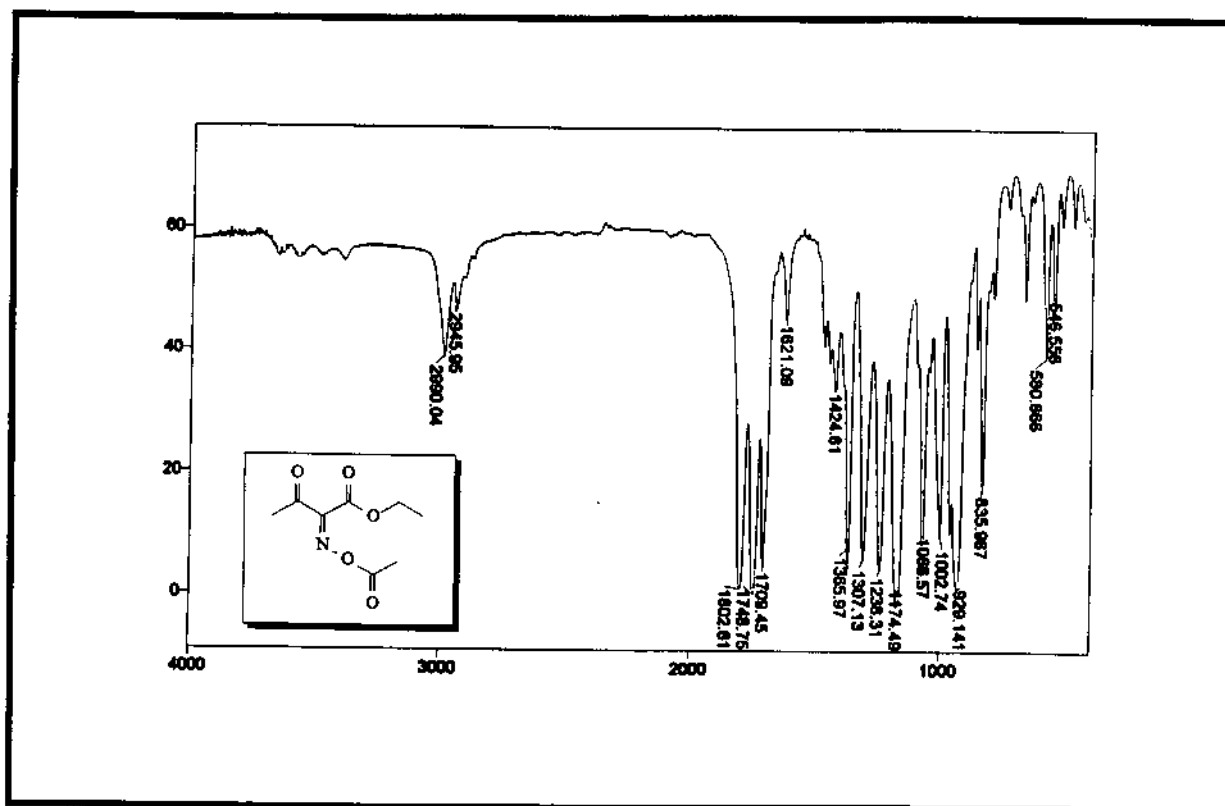
Espectro RMN- ^{13}C : (E)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-30



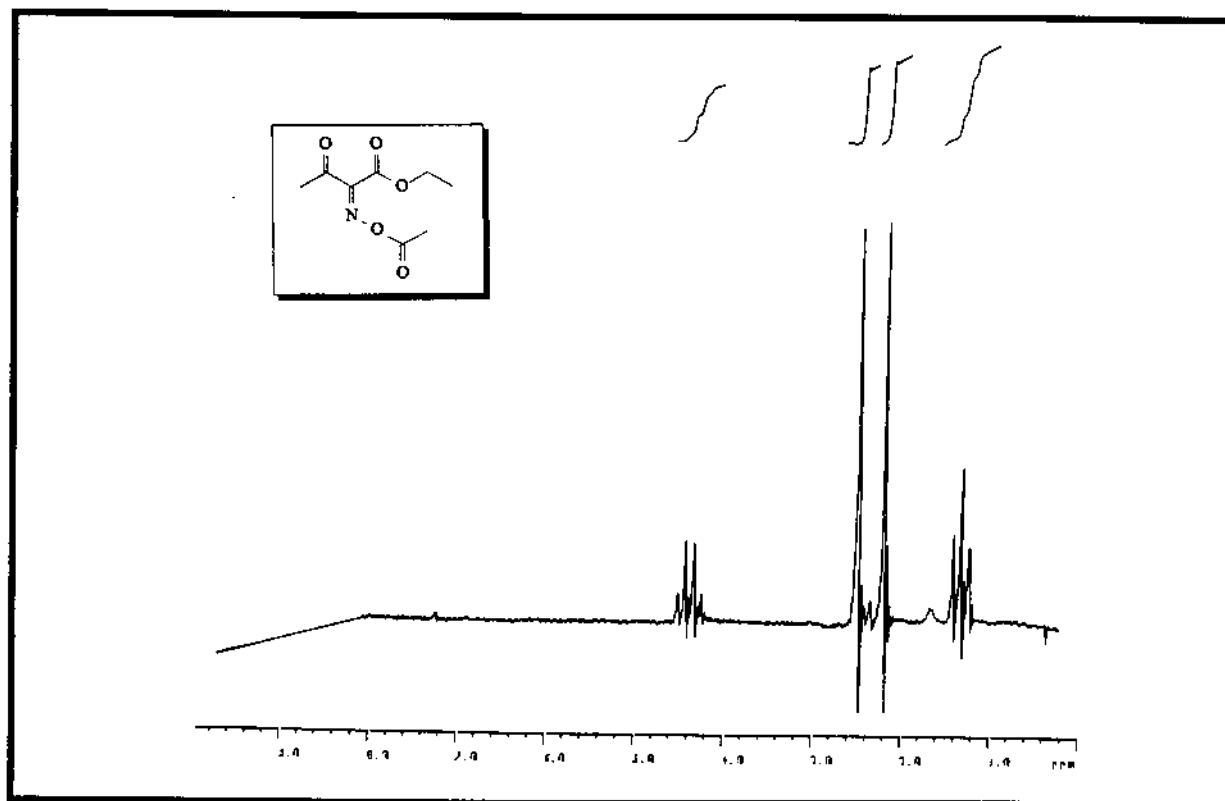
Espectro RMN- ^{13}C DEPT: (E)-2-benzoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (E)-30



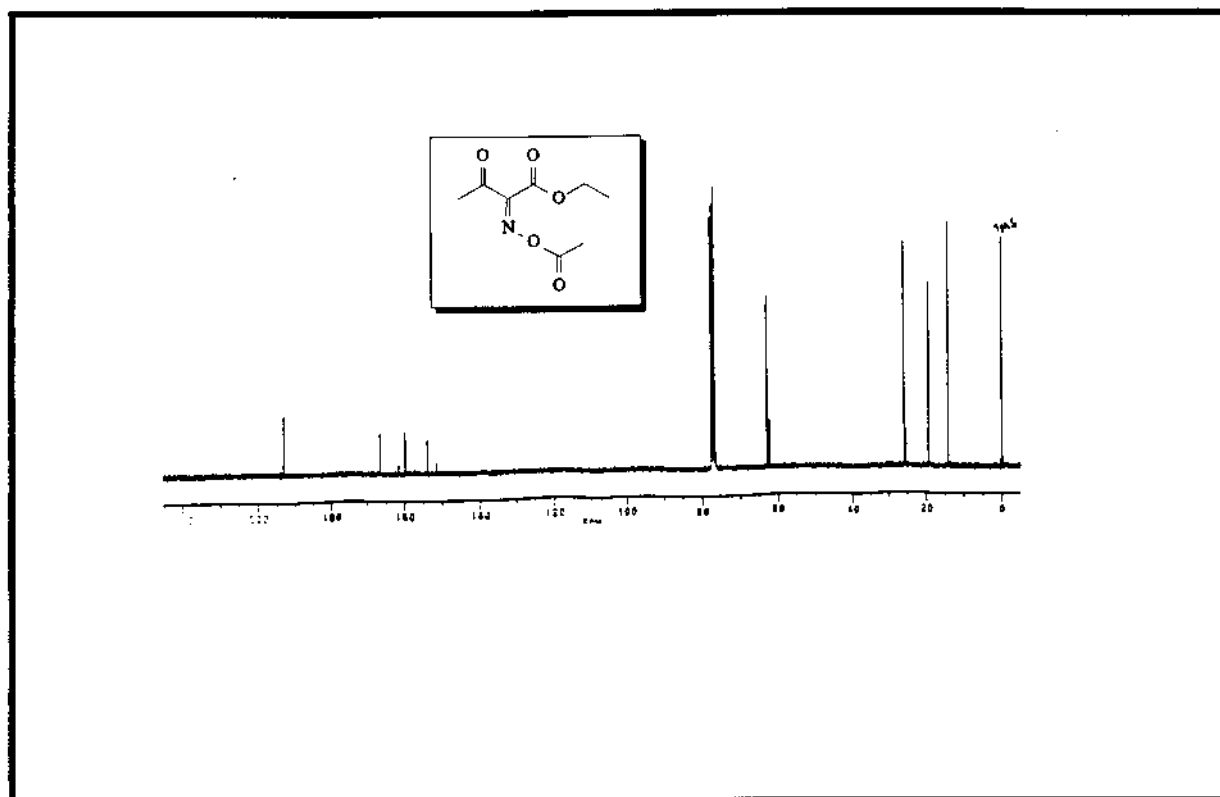
Espectro EM: (Z)-2-acetoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-31



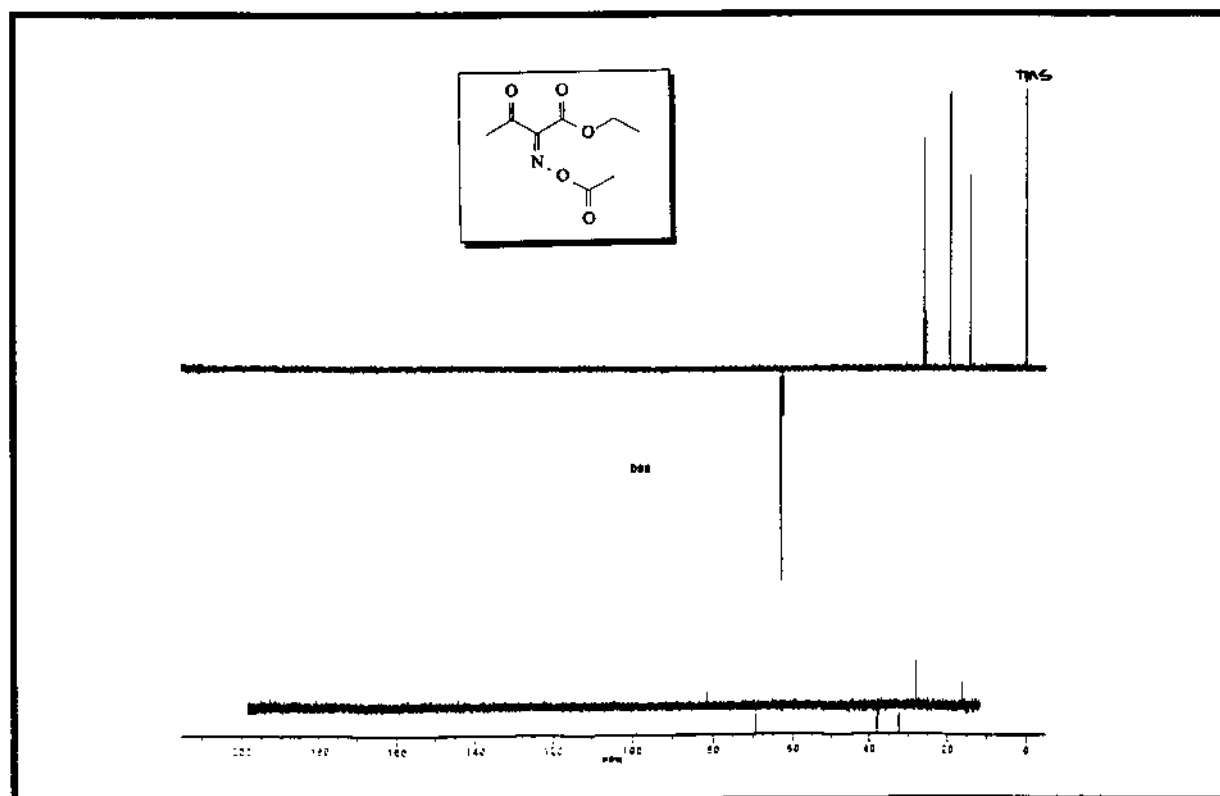
Espectro IV: (Z)-2-acetoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-31



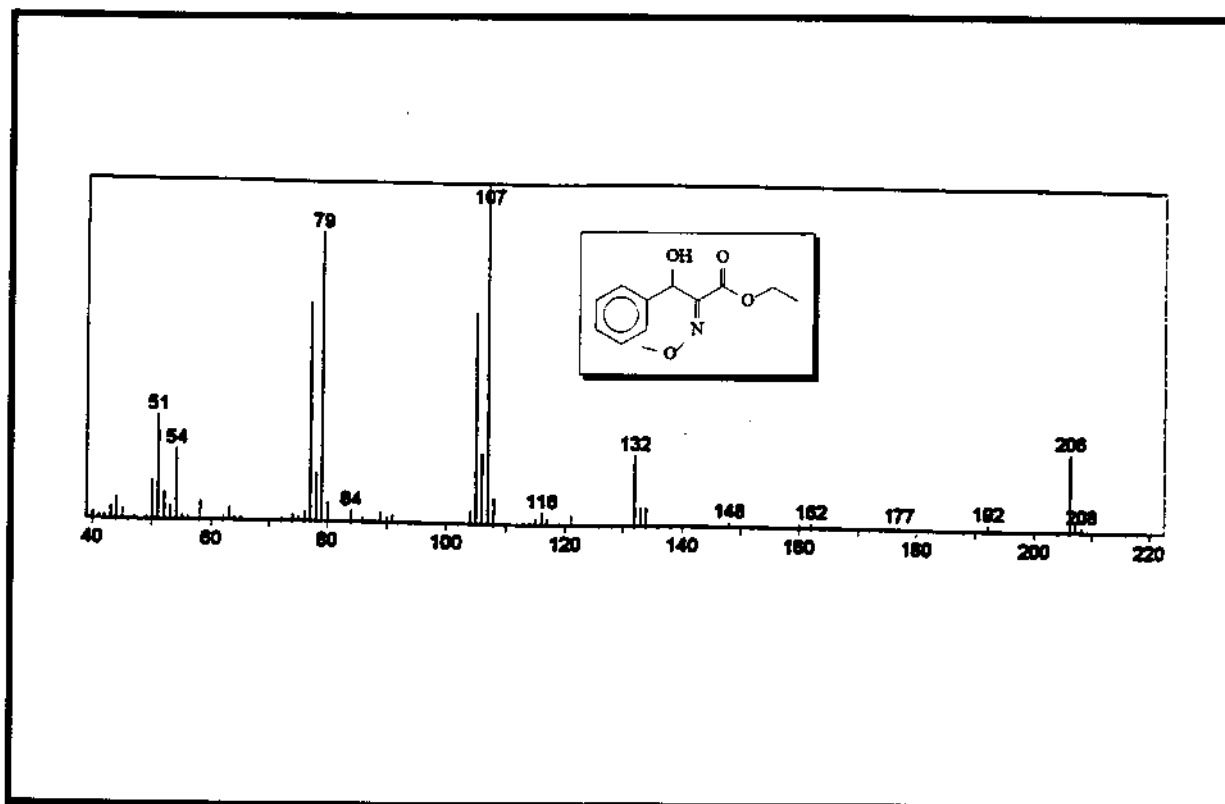
Espectro RMN-¹H: (Z)-2-acetoxilimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-31



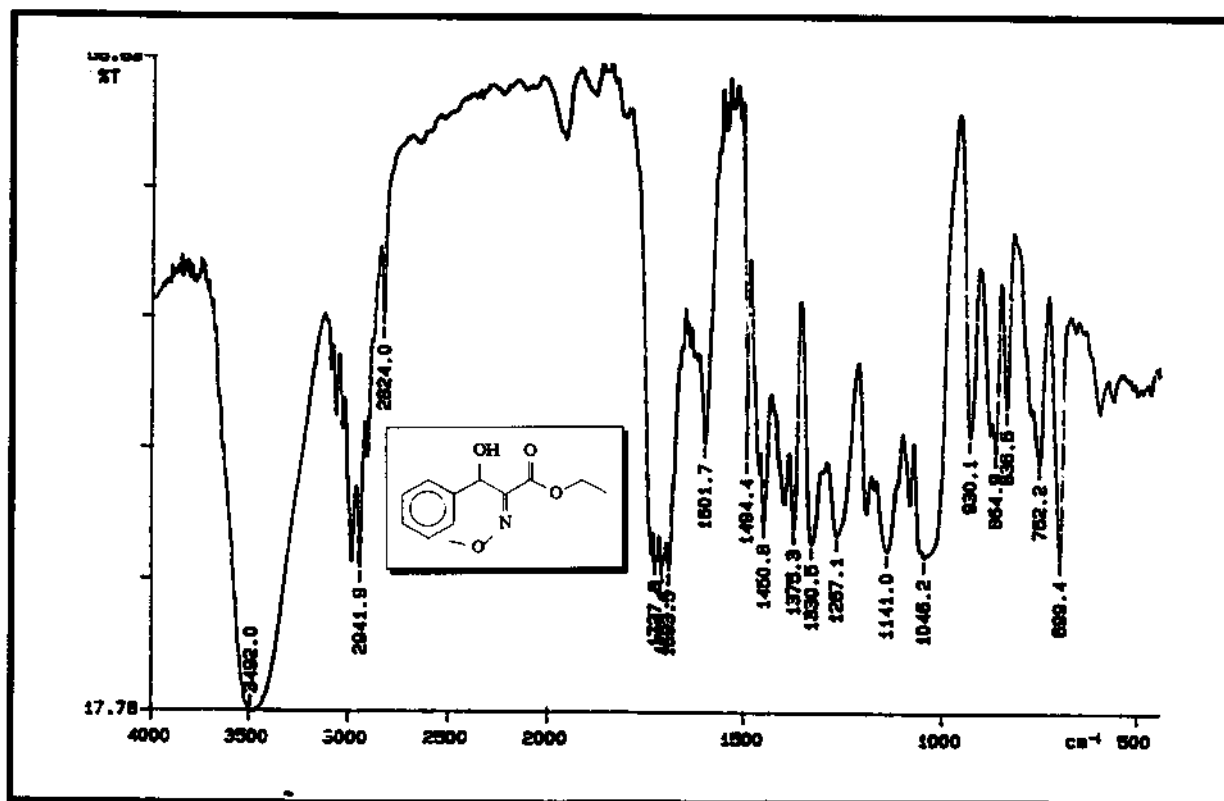
Espectro RMN- ^{13}C : (Z)-2-acetoxylimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-31



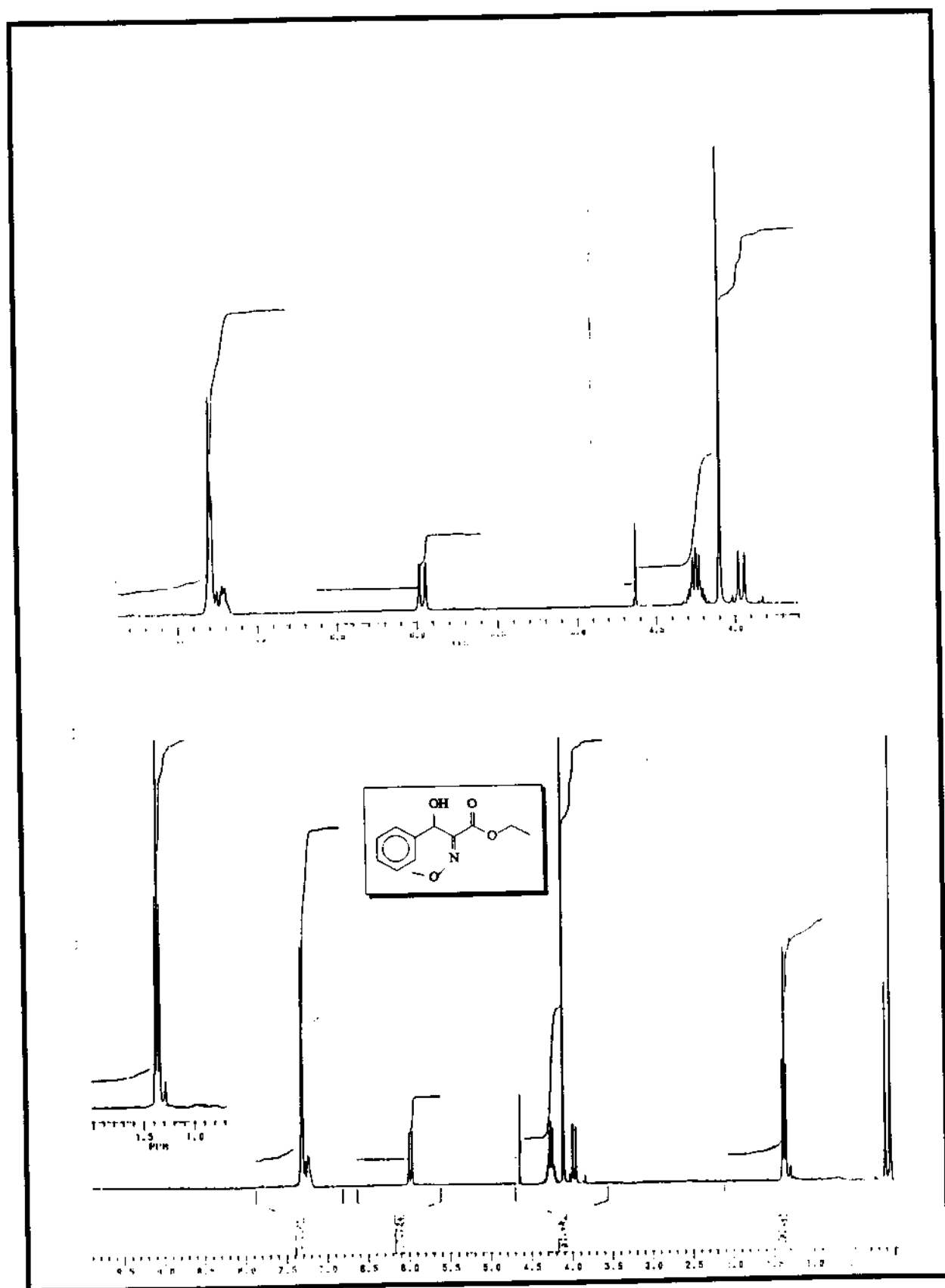
Espectro RMN- ^{13}C DEPT: (Z)-2-acetoxylimino-3-oxo-butanoato de etila, (Z)-31



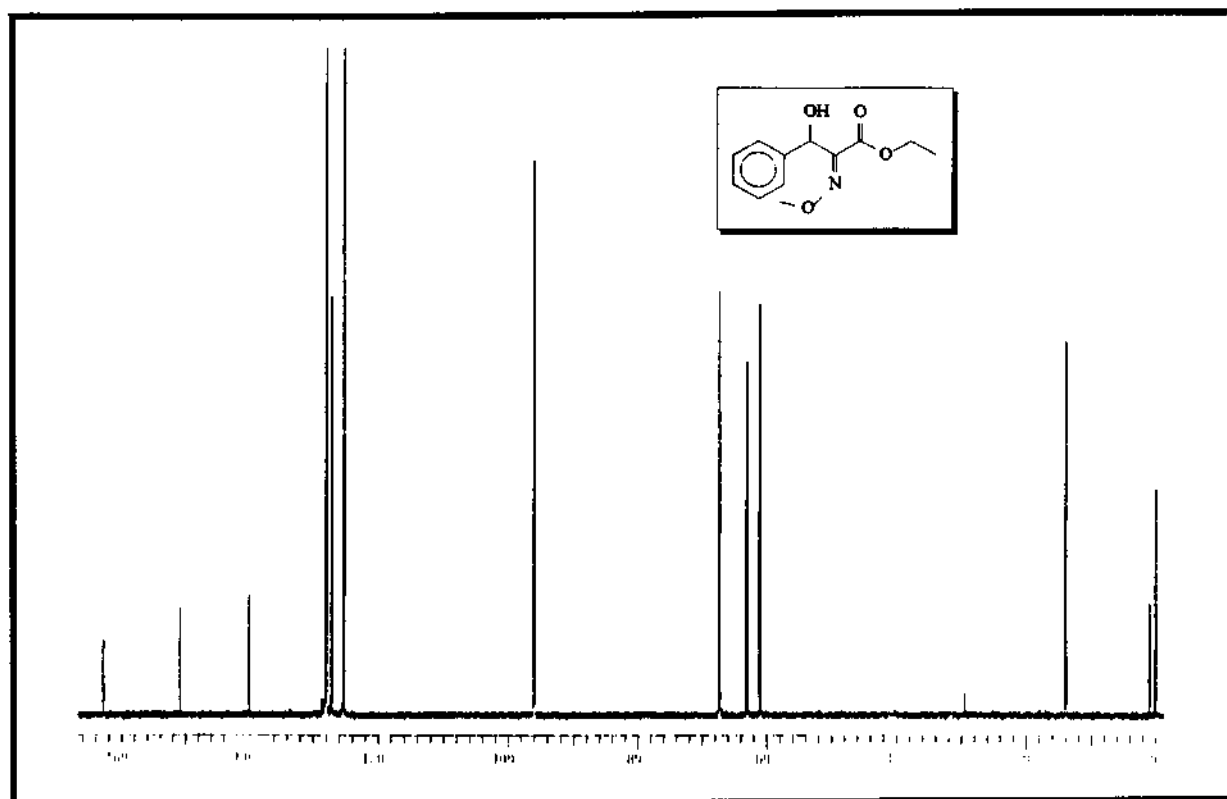
Espectro EM: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-3-fenil-propionato de etila, (E)-33



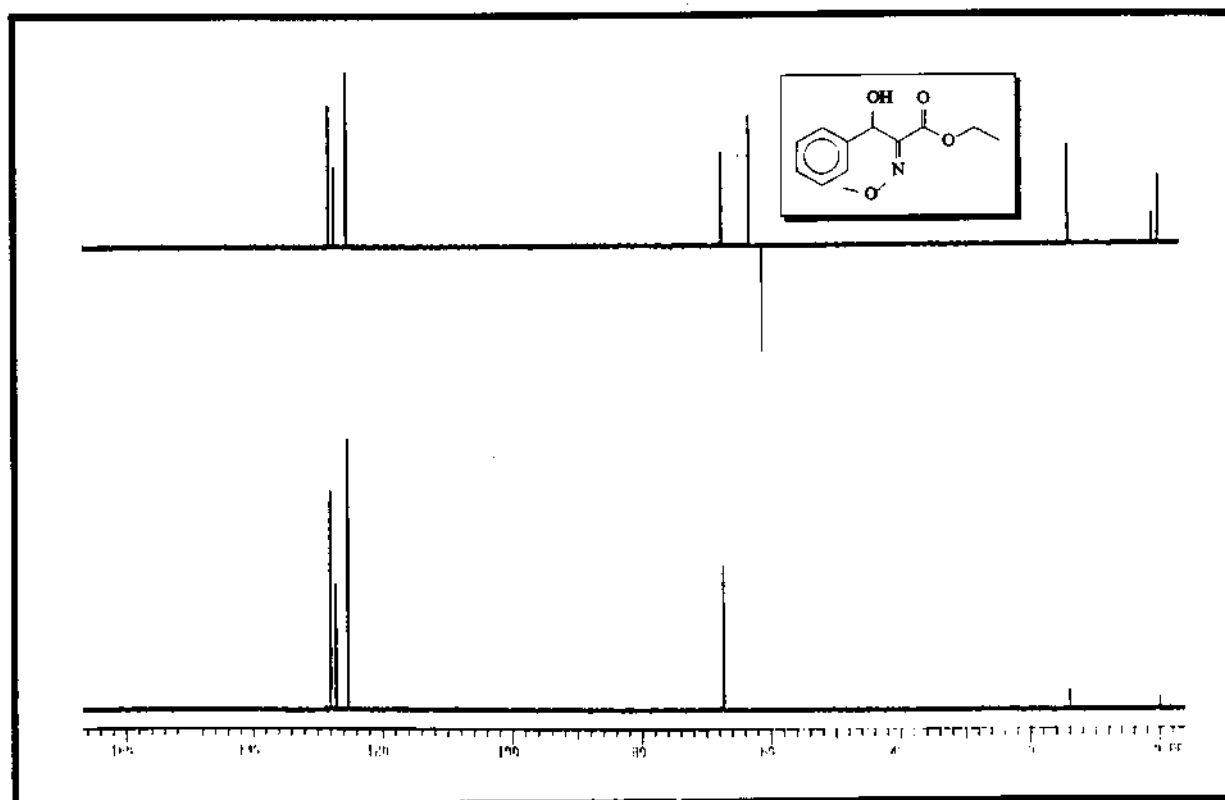
Espectro IV: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-3-fenil-propionato de etila, (E)-33



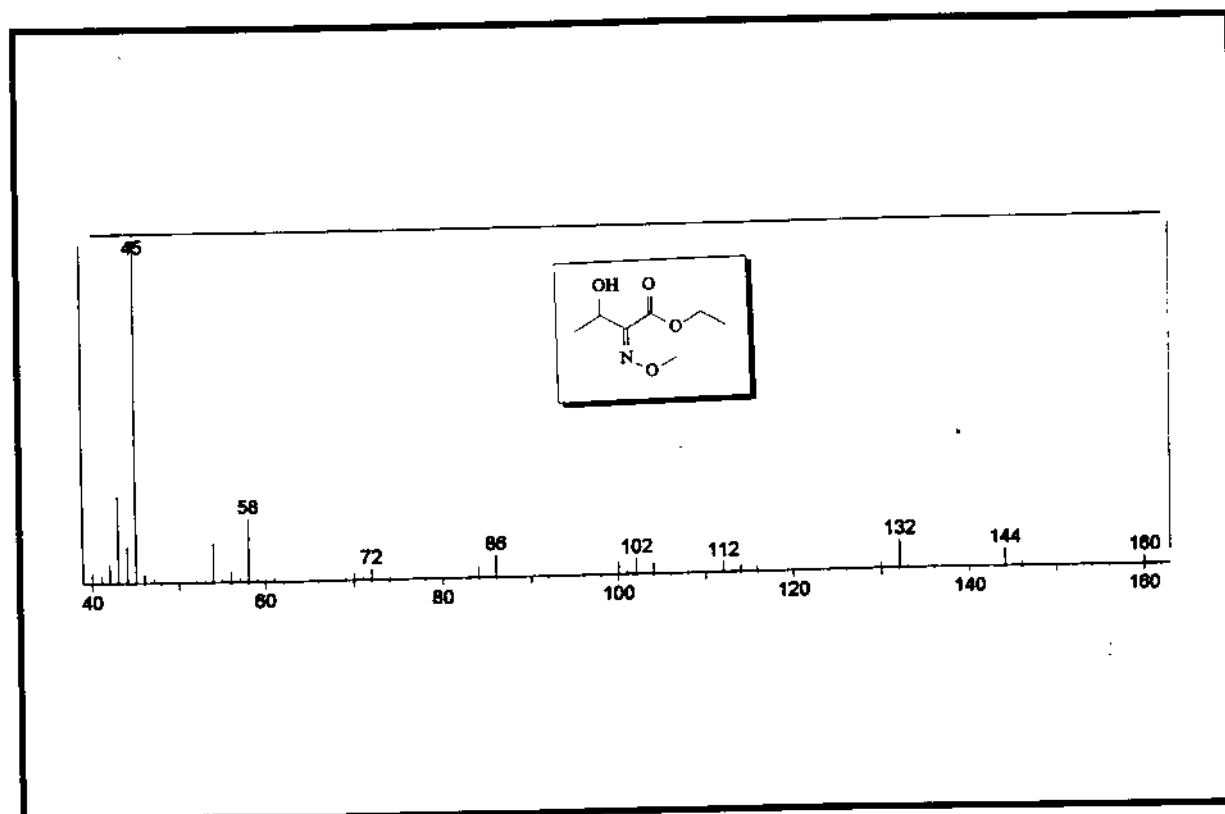
Espectro RMN- ^1H : 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-3-fenil-propionato de etila, (E)-33



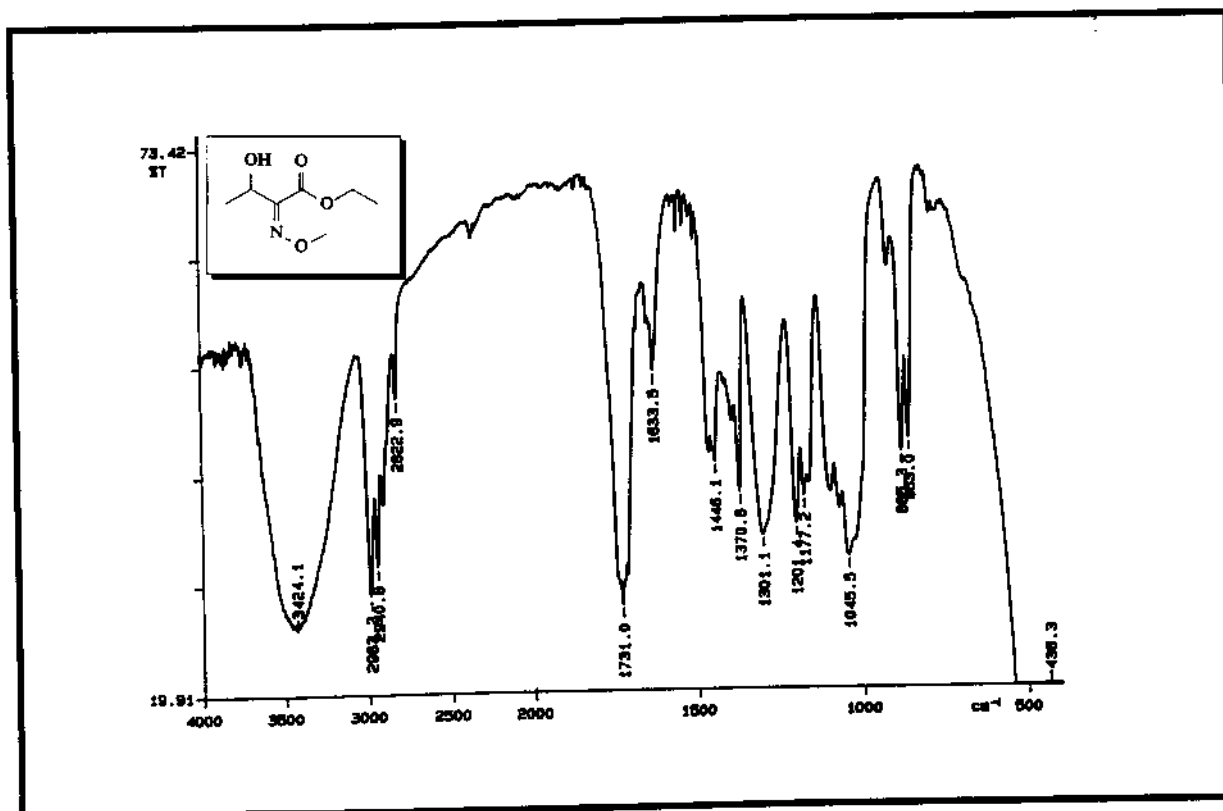
Espectro RMN- ^{13}C : 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-3-fenil-propionato de etila, (E)-33



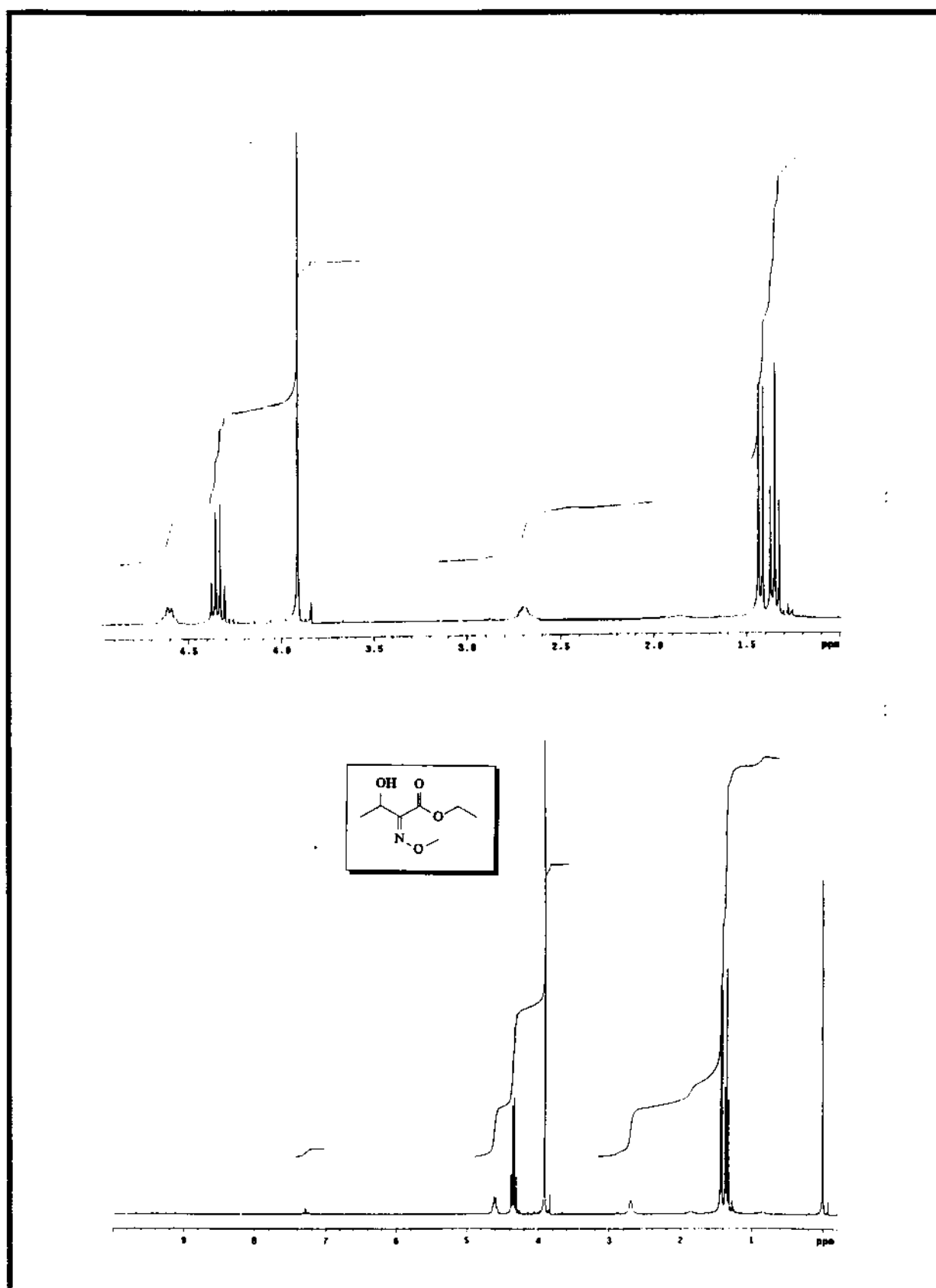
Espectro RMN- ^{13}C DEPT: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-3-fenil-propionato de etila, (E)-33



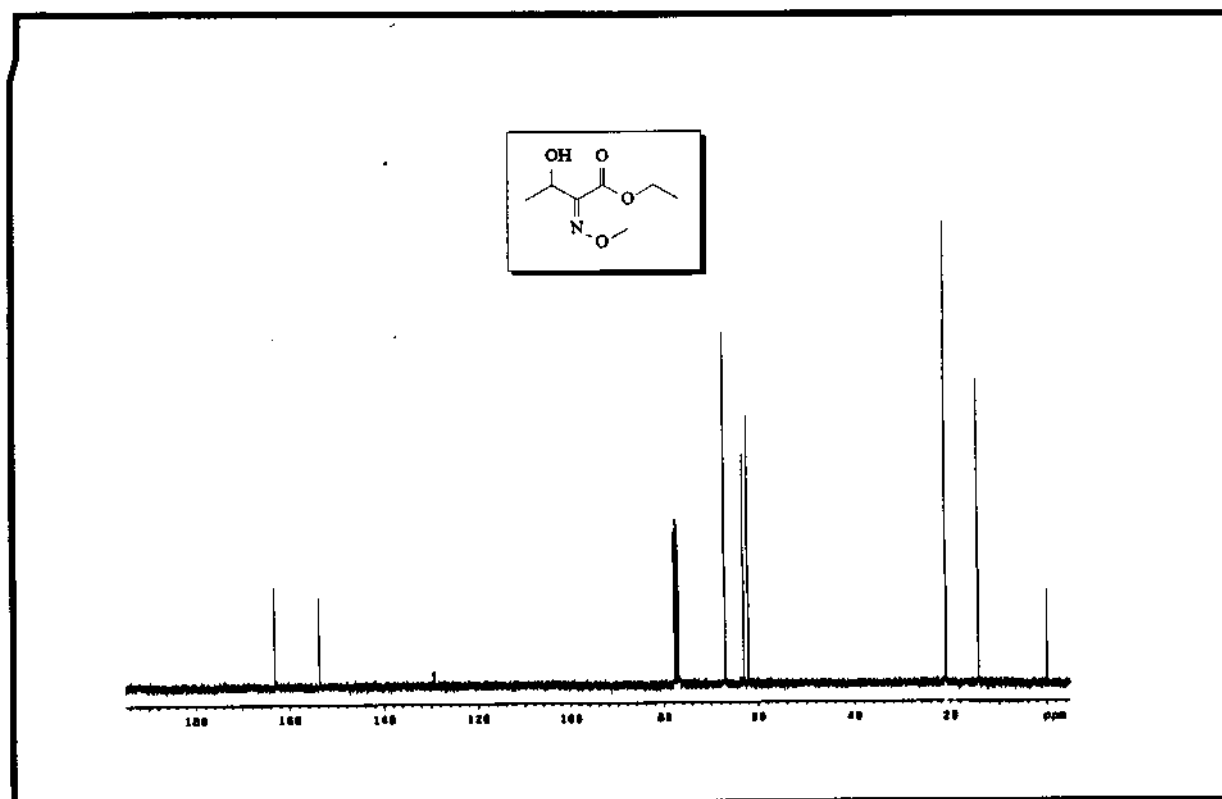
Espectro EM: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (Z)-34



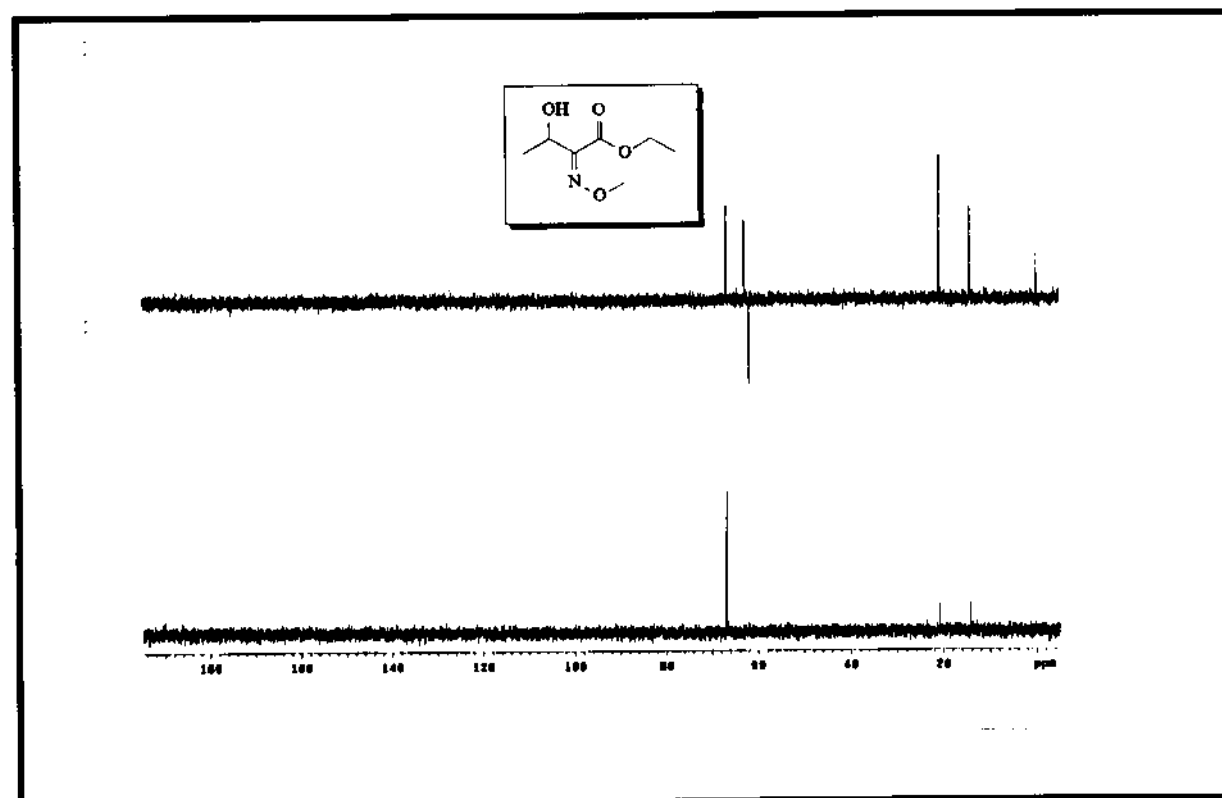
Espectro IV: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (Z)-34



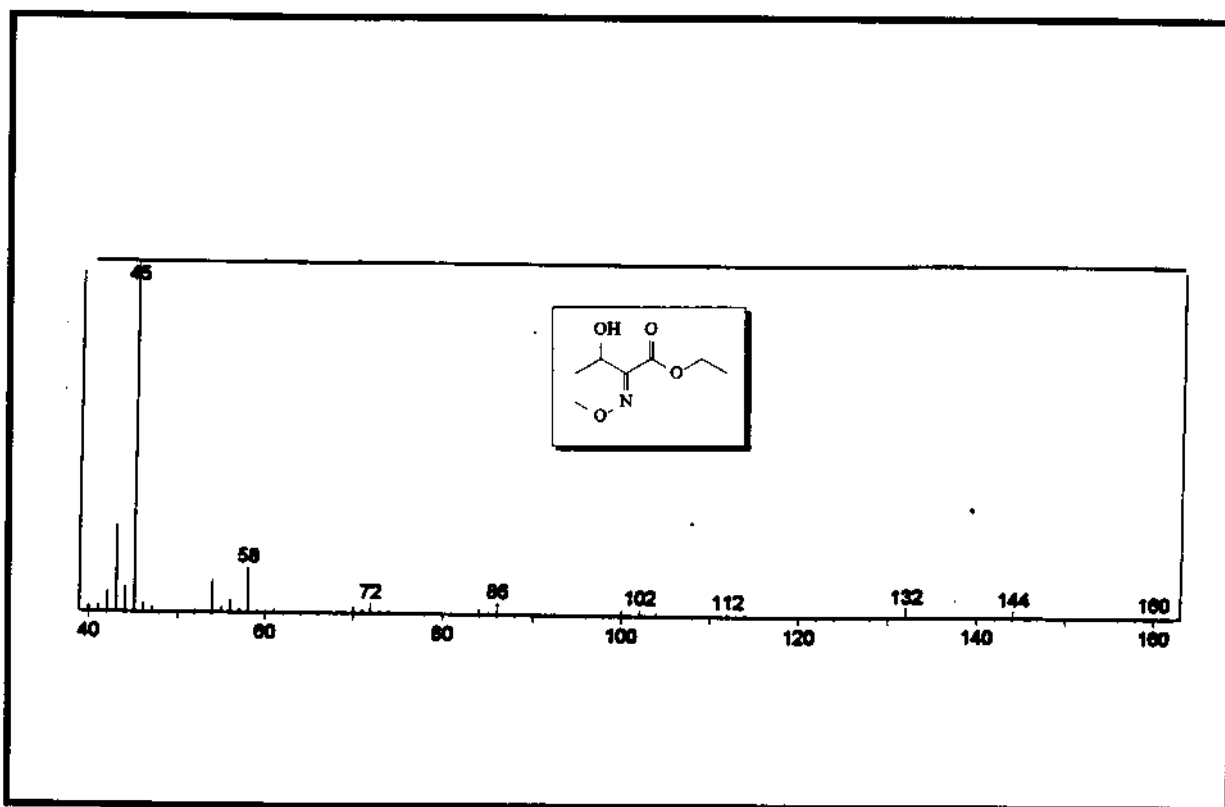
Espectro RMN- ^1H : 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (Z)-34



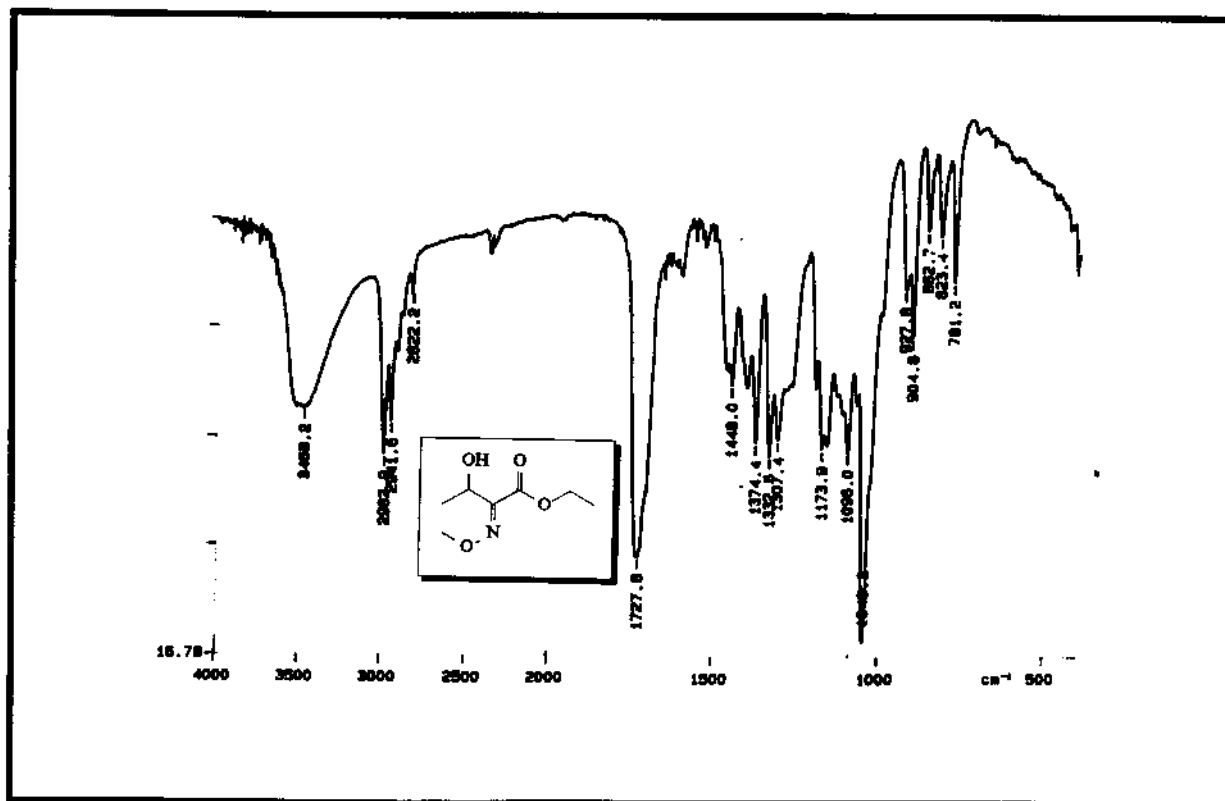
Espectro RMN-¹³C: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (Z)-34



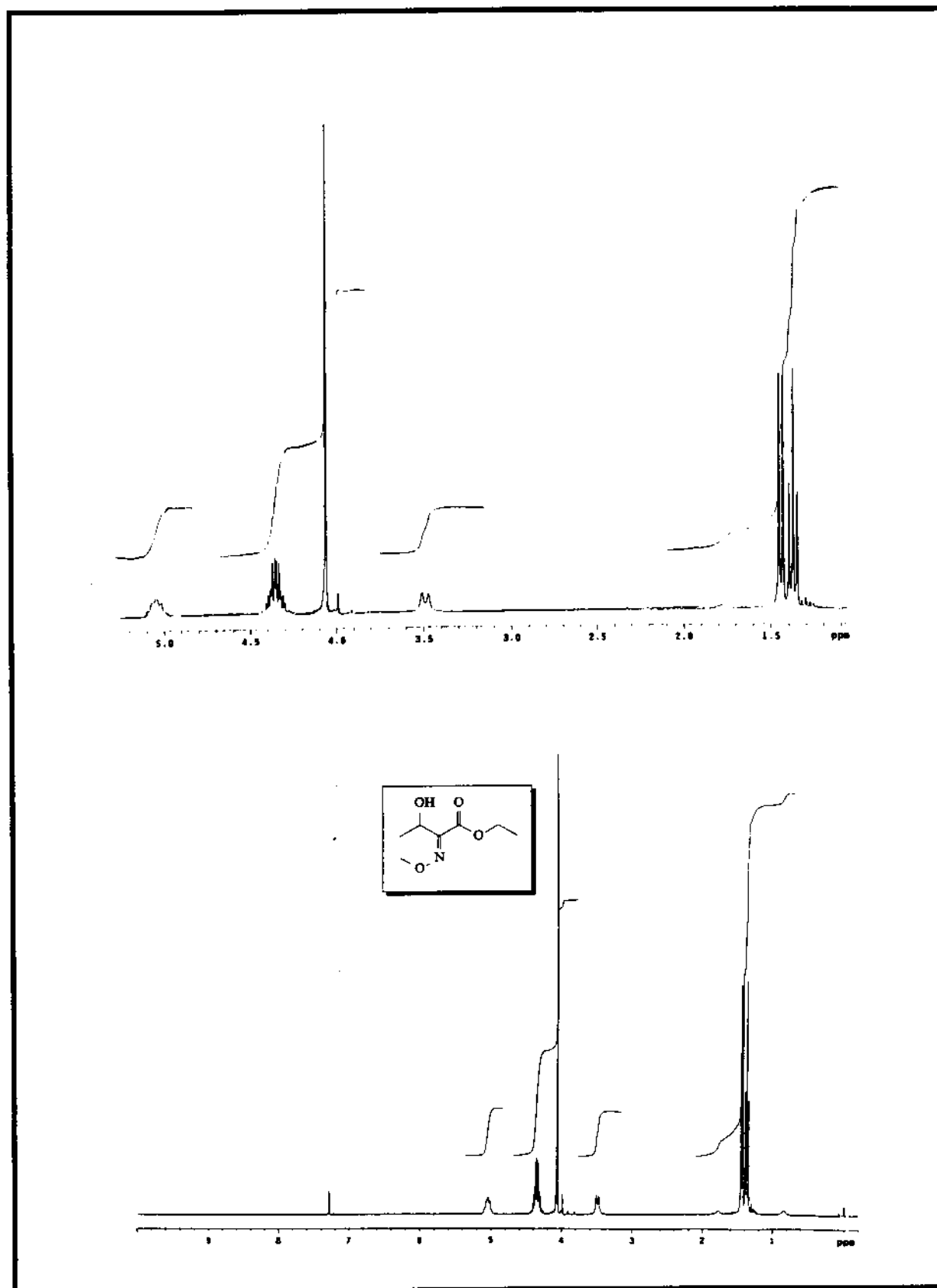
Espectro RMN-¹³C DEPT: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (Z)-34



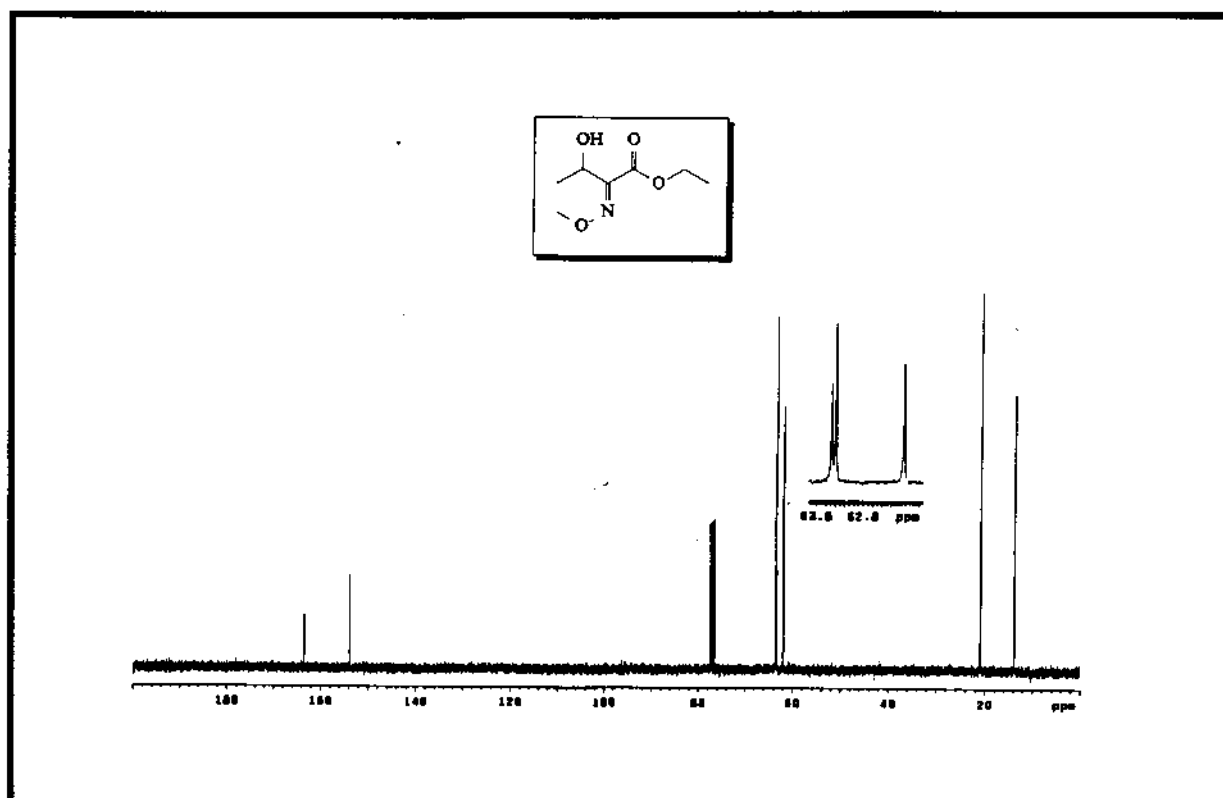
Espectro EM: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (E)-34



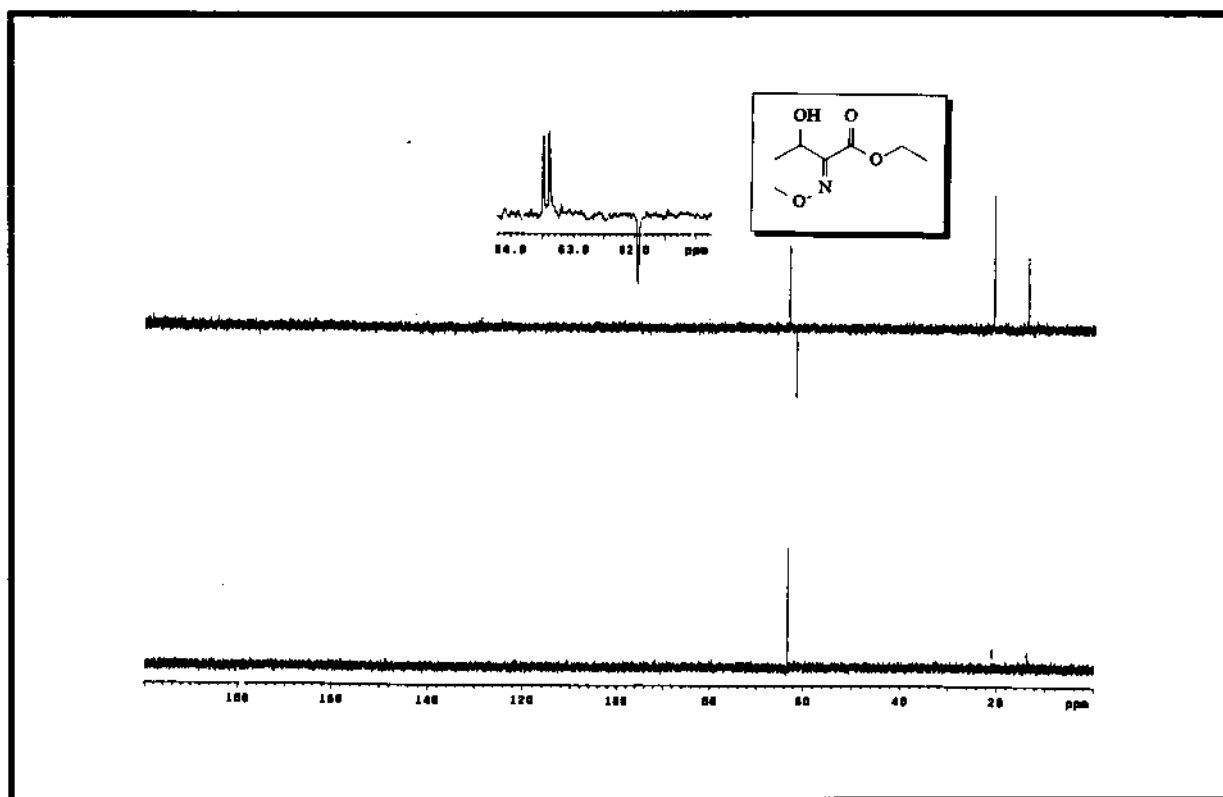
Espectro IV: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (E)-34



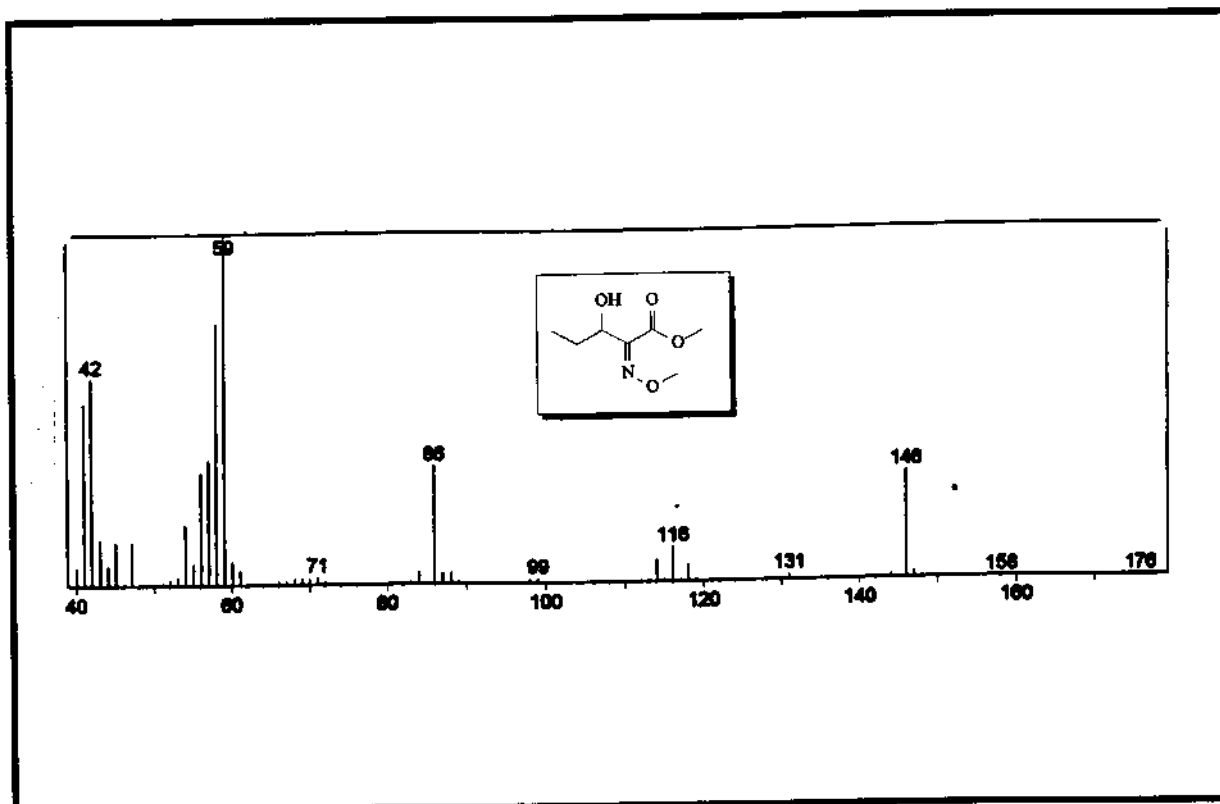
Espectro RMN- ^1H : 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (E)-34



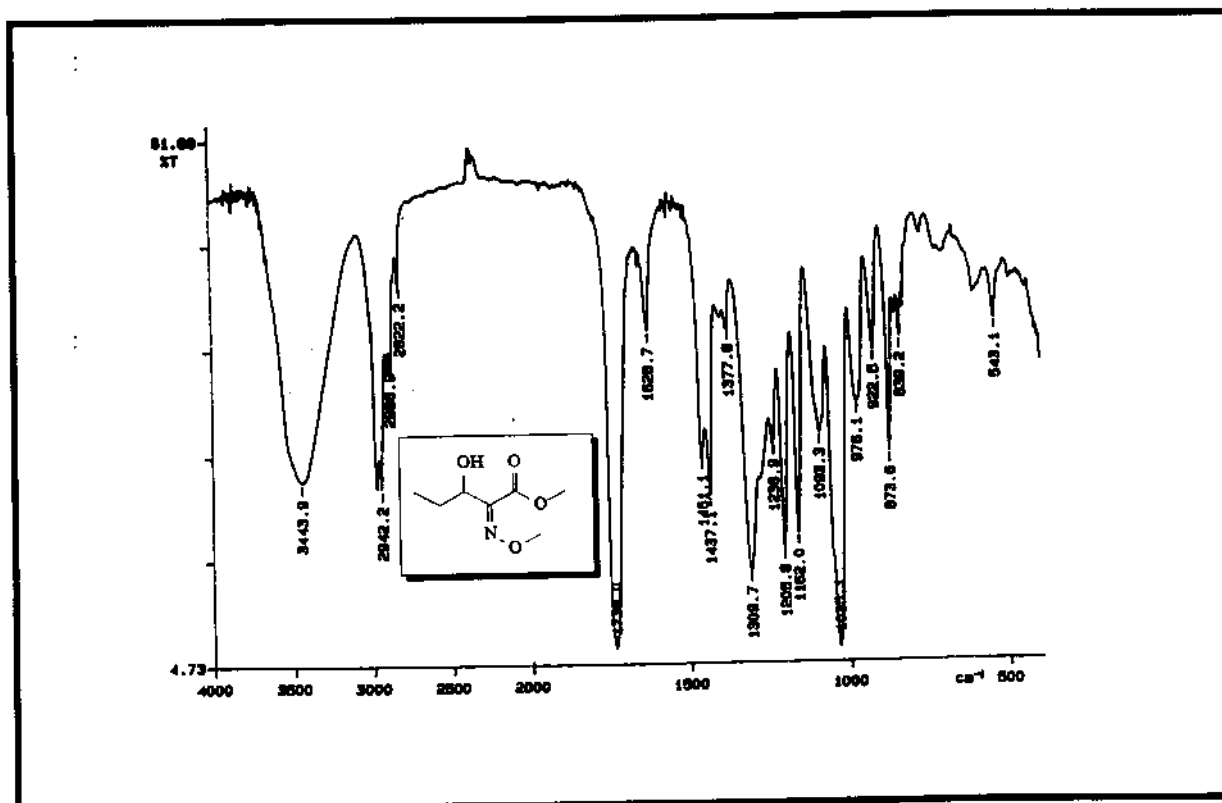
Espectro RMN-¹³ C: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (E)-34



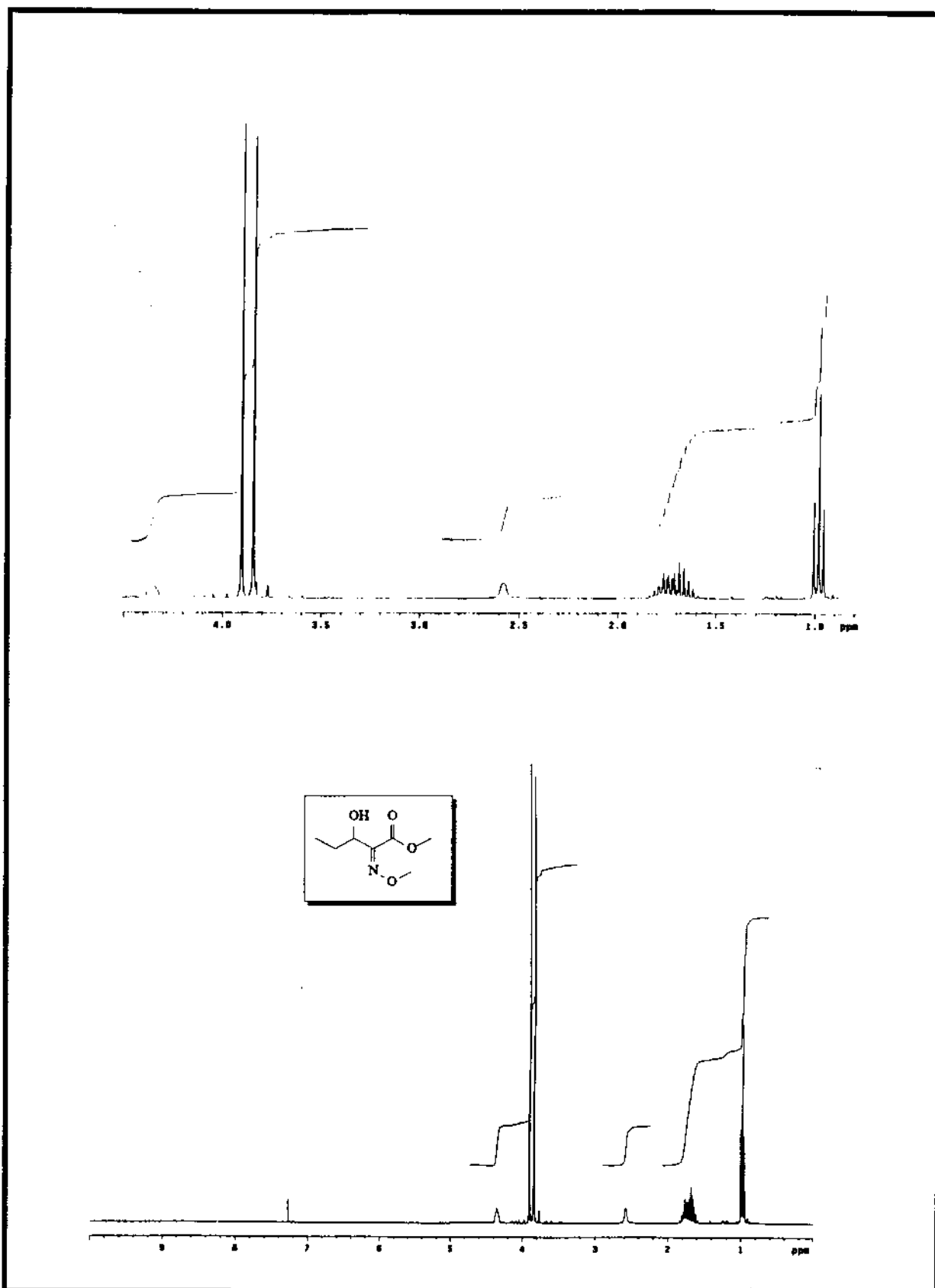
Espectro RMN-¹³ C DEPT: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de etila, (E)-34



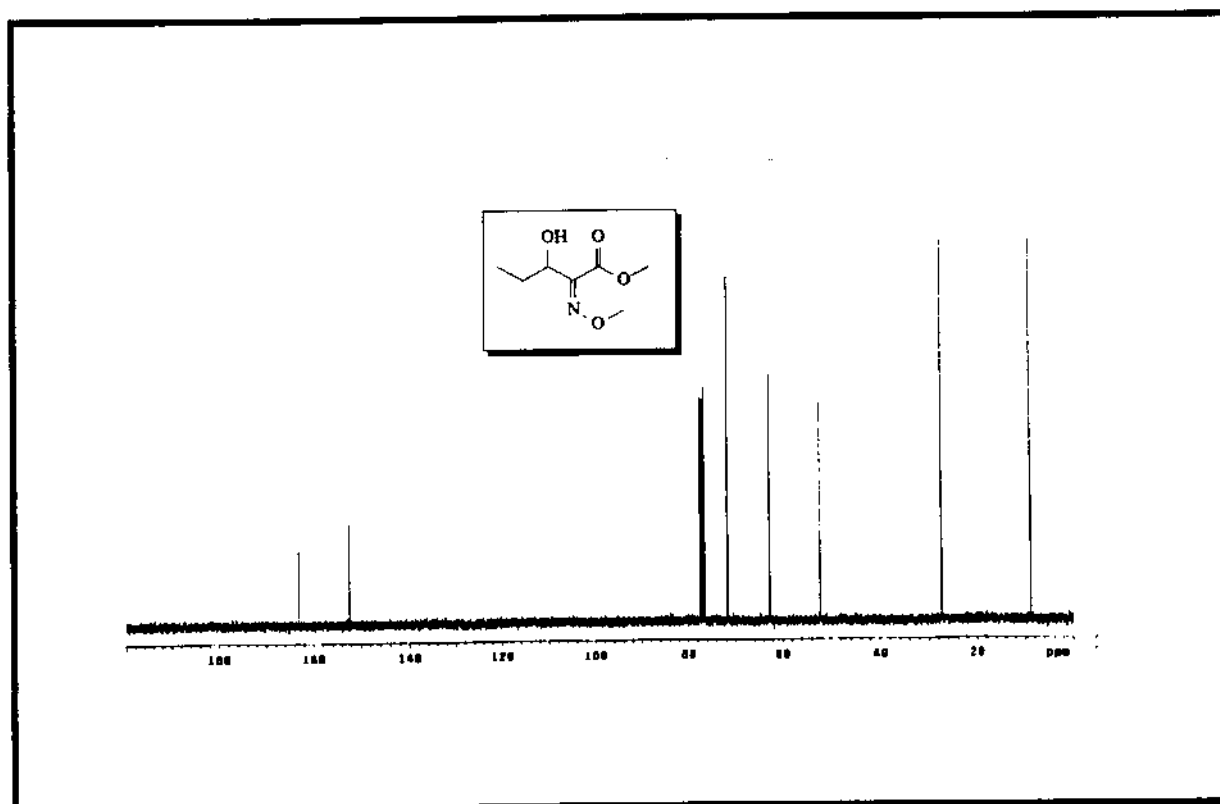
Espectro EM: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (Z)-35



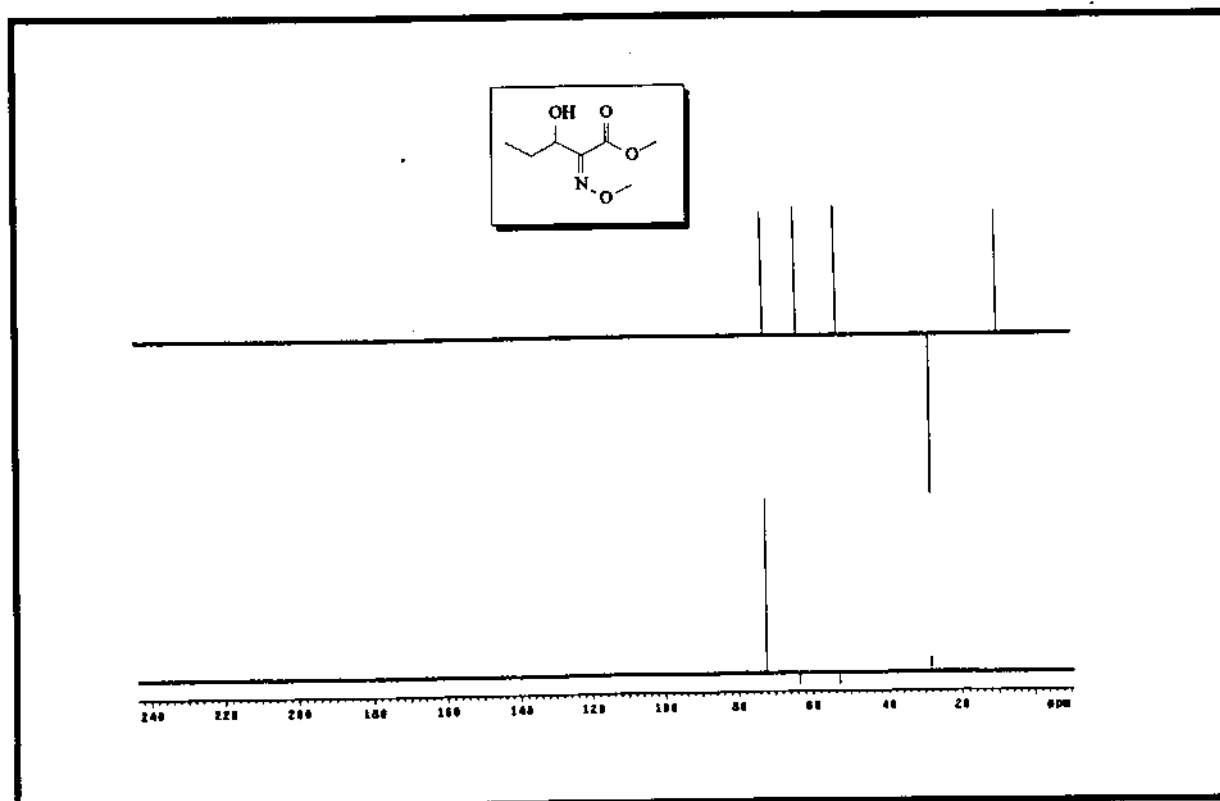
Espectro IV: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (Z)-35



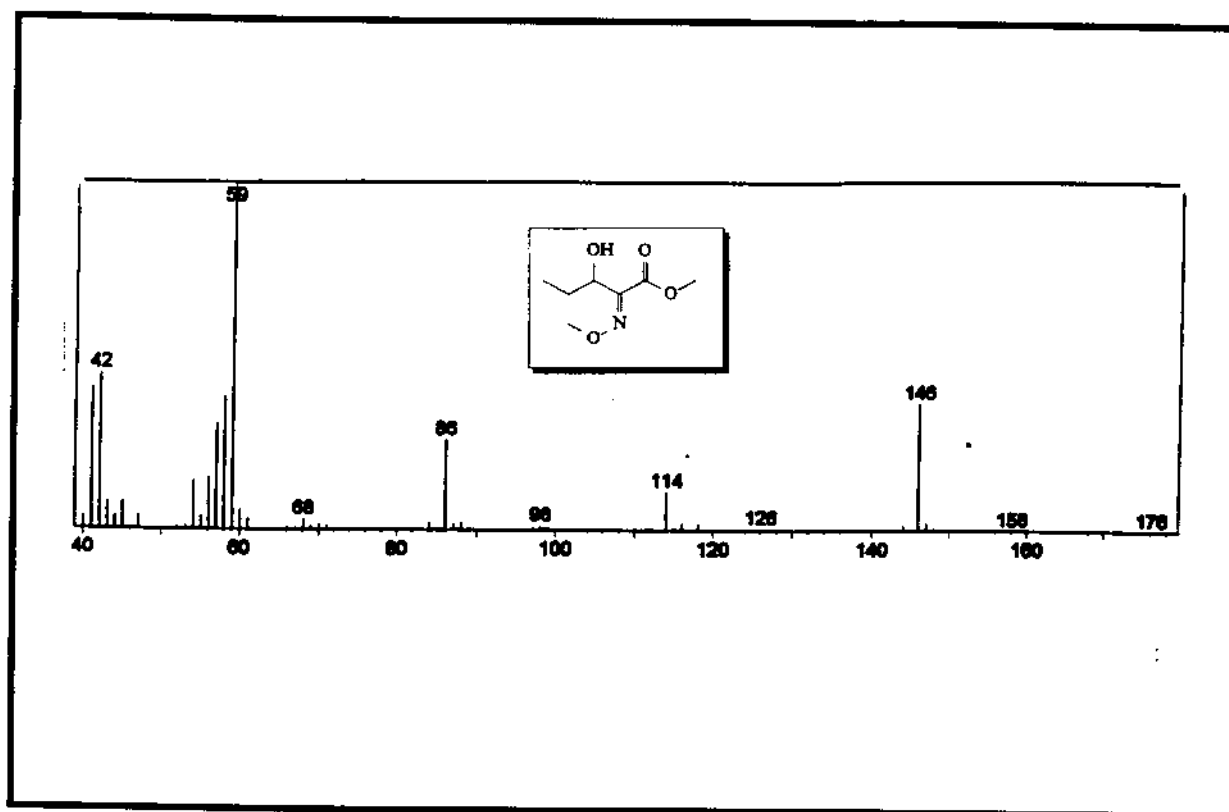
Espectro RMN- ^1H : 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (Z)-35



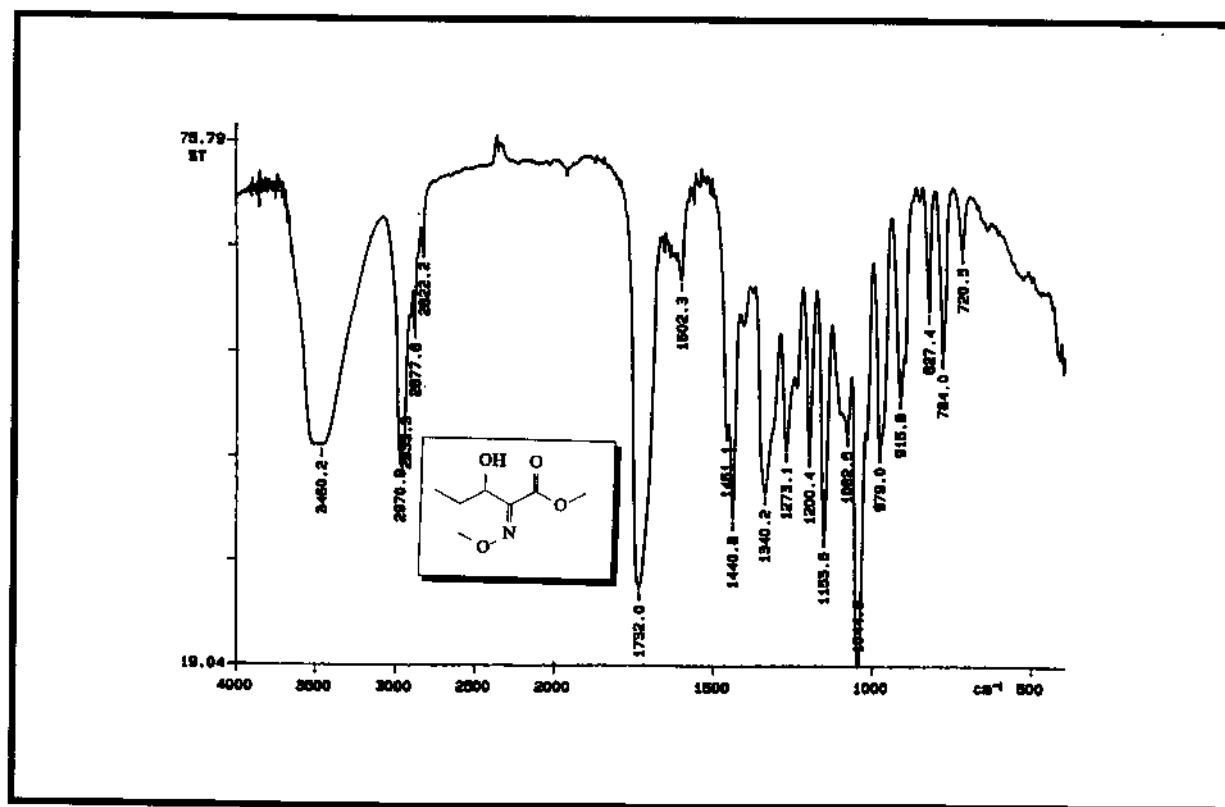
Espectro RMN-¹³C: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (Z)-35



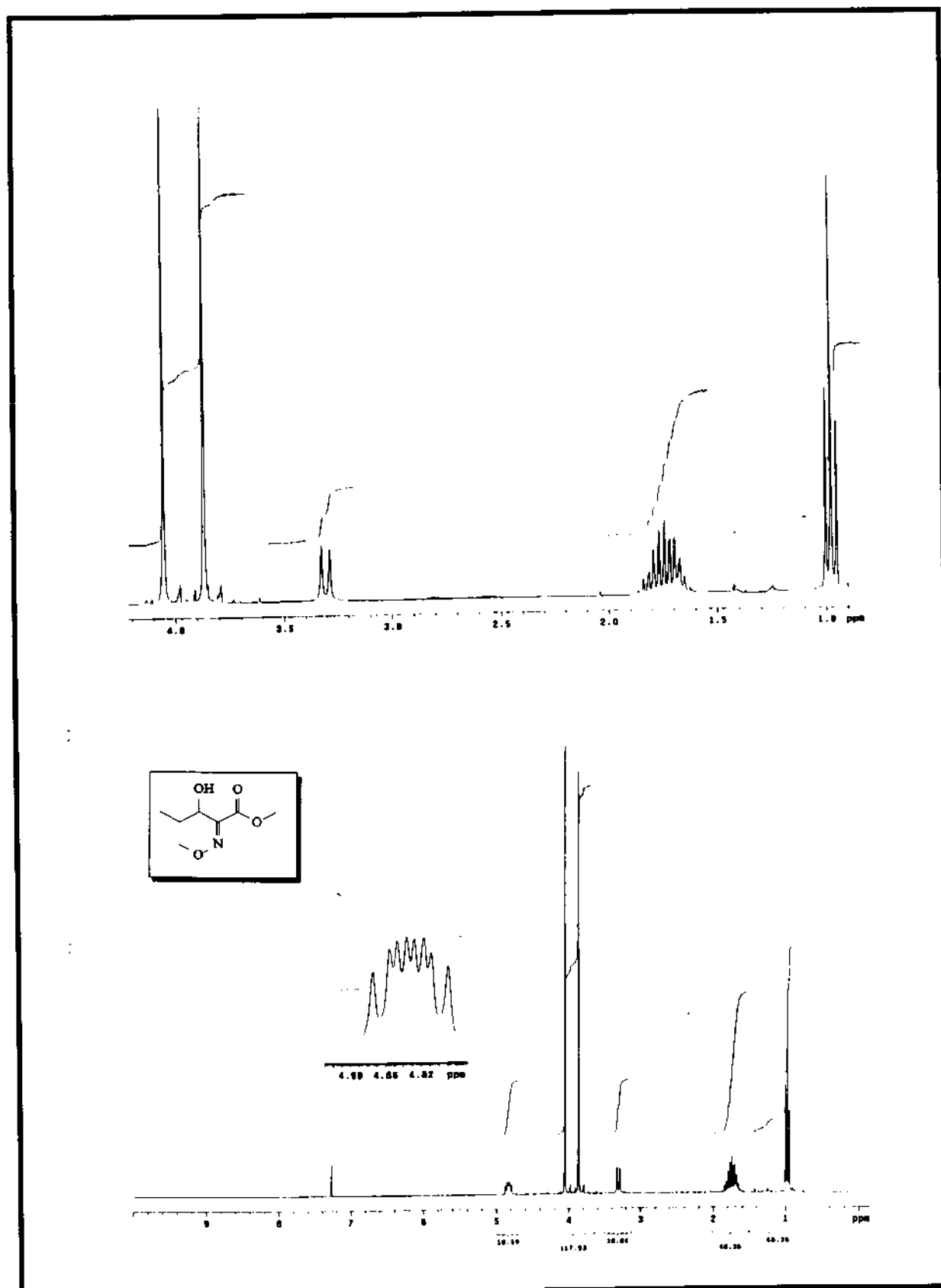
Espectro RMN-¹³C DEPT: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (Z)-35



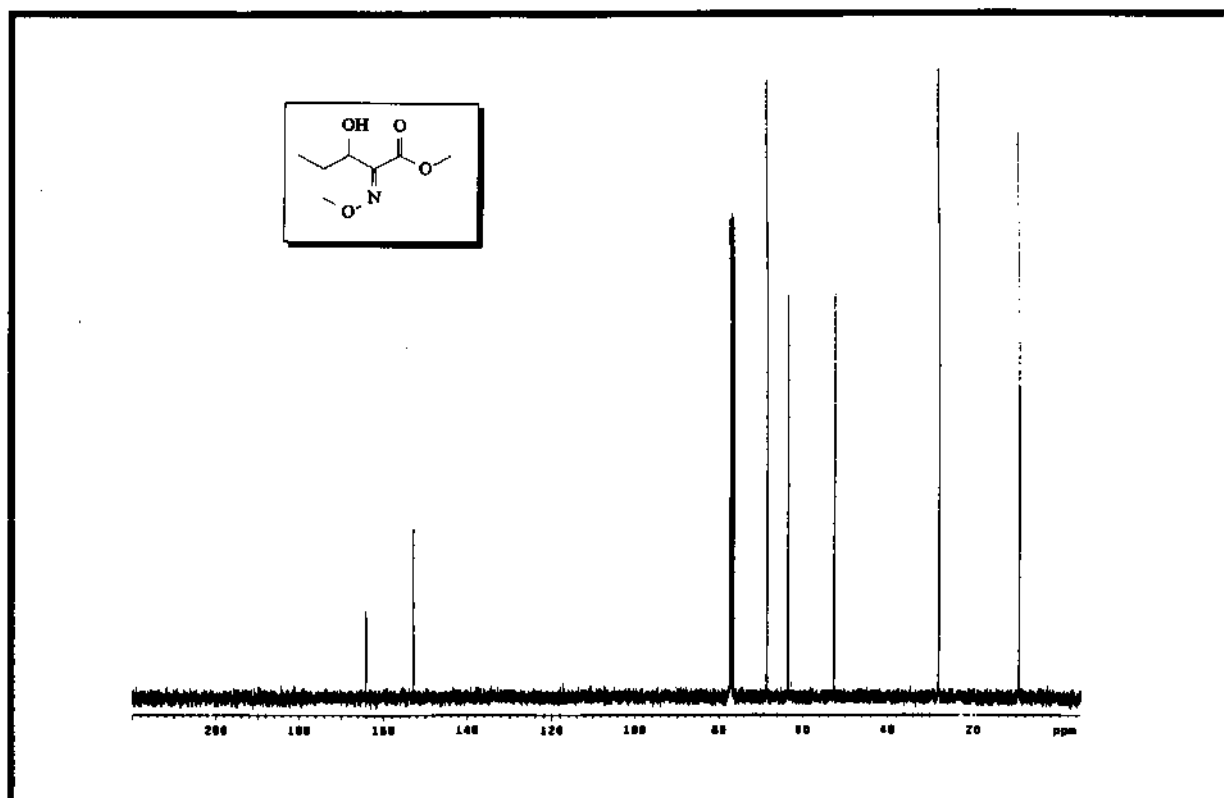
Espectro EM: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (E)-35



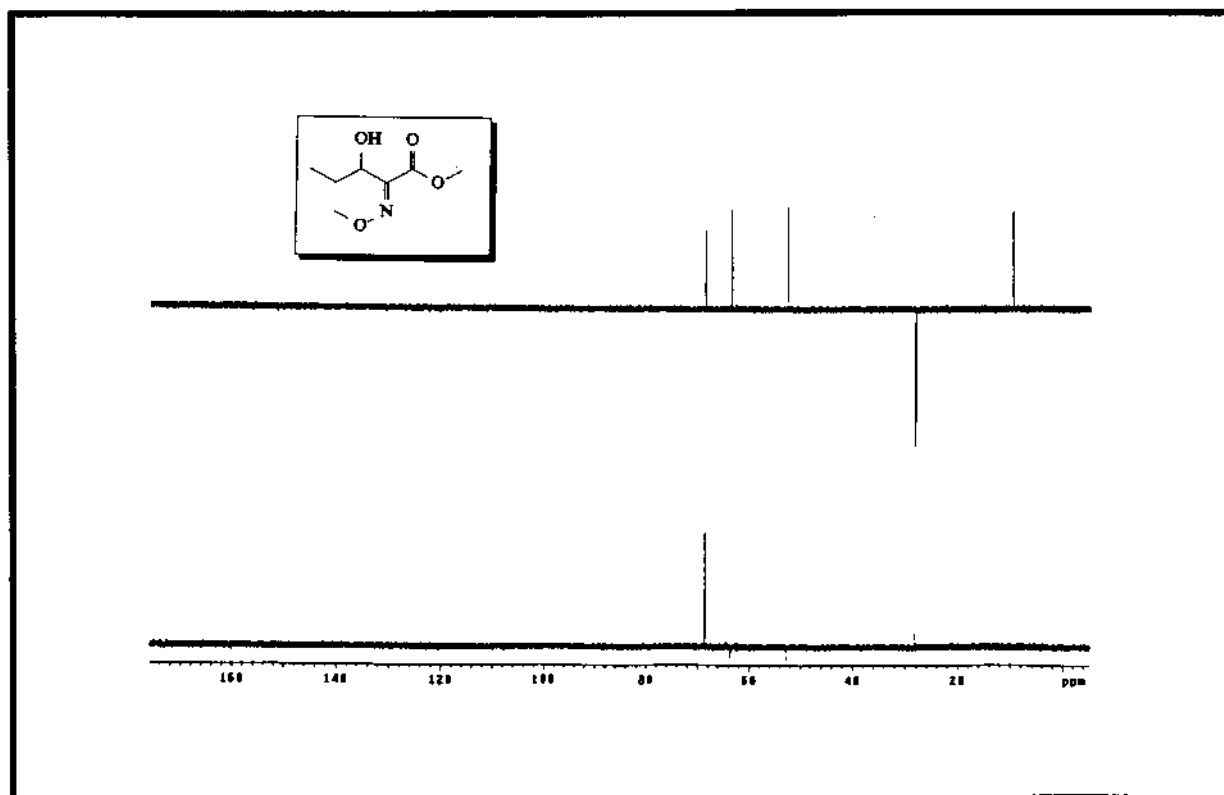
Espectro IV: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (E)-35



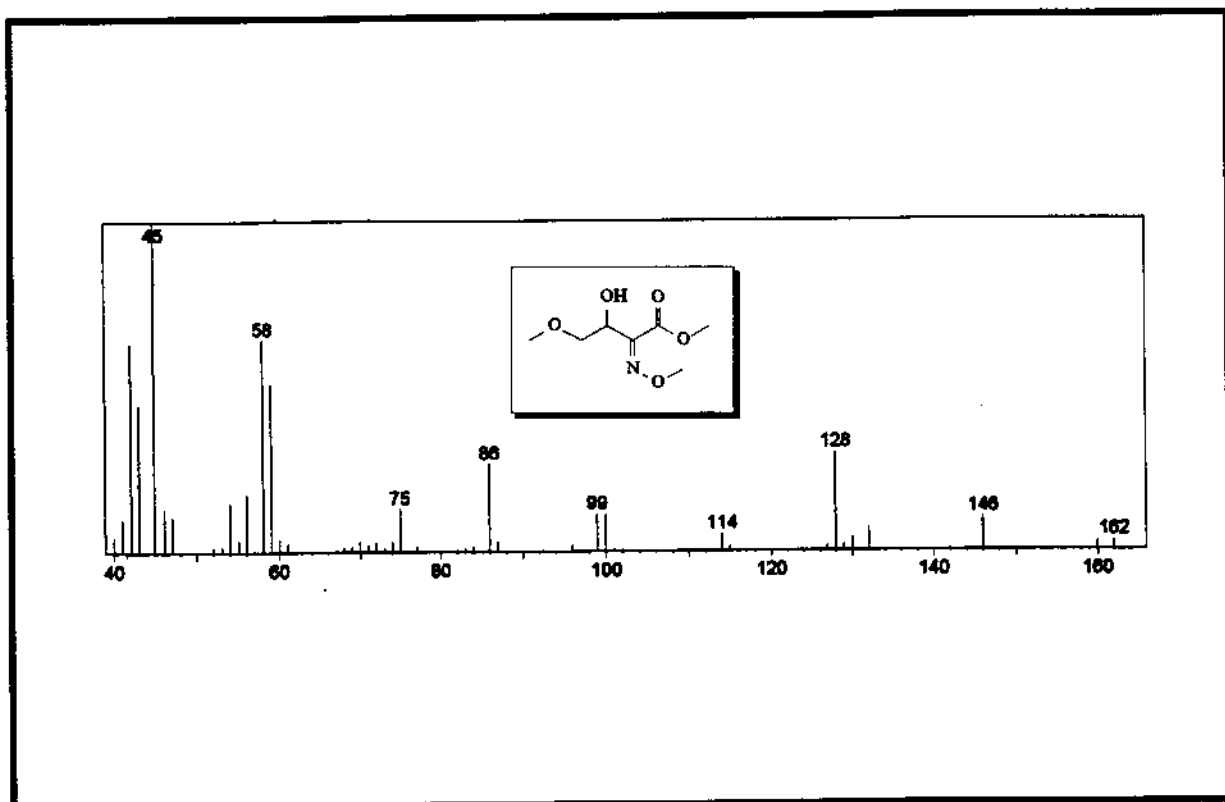
Espectro RMN- ^1H : 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (E)-35



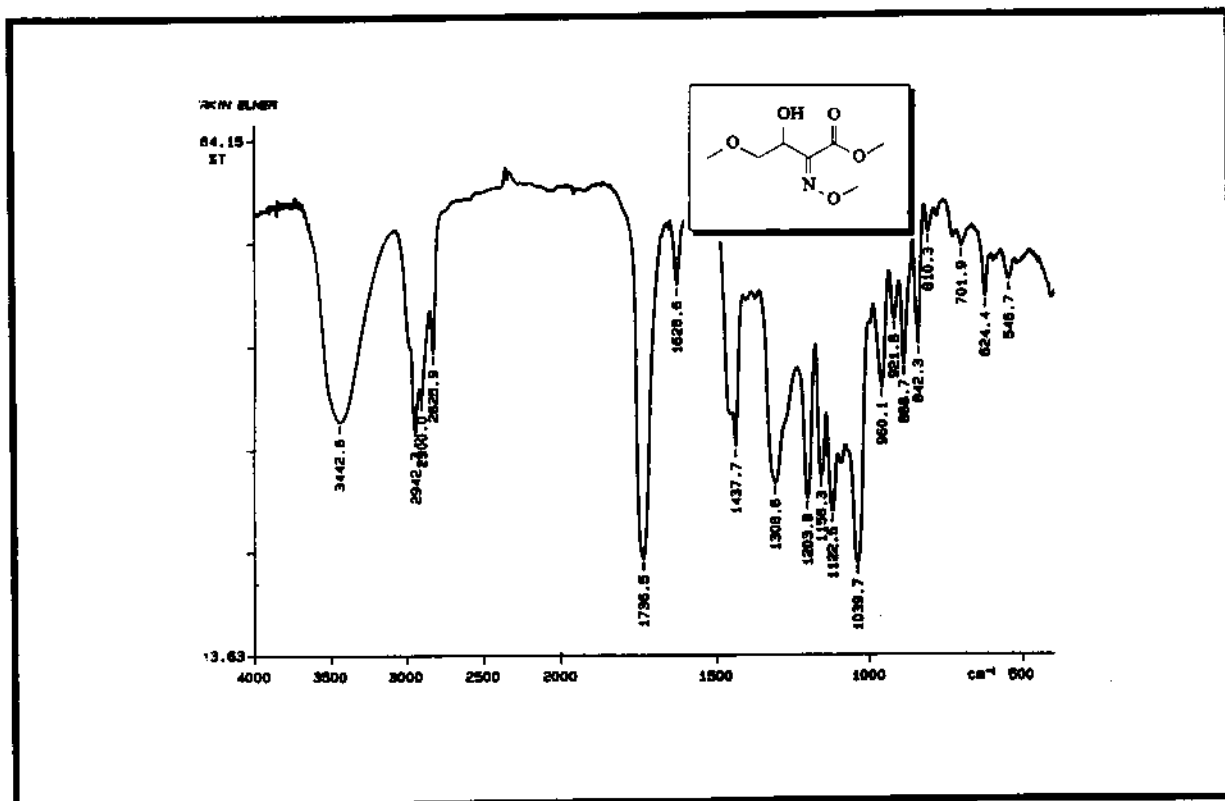
Espectro RMN-¹³ C: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (E)-35



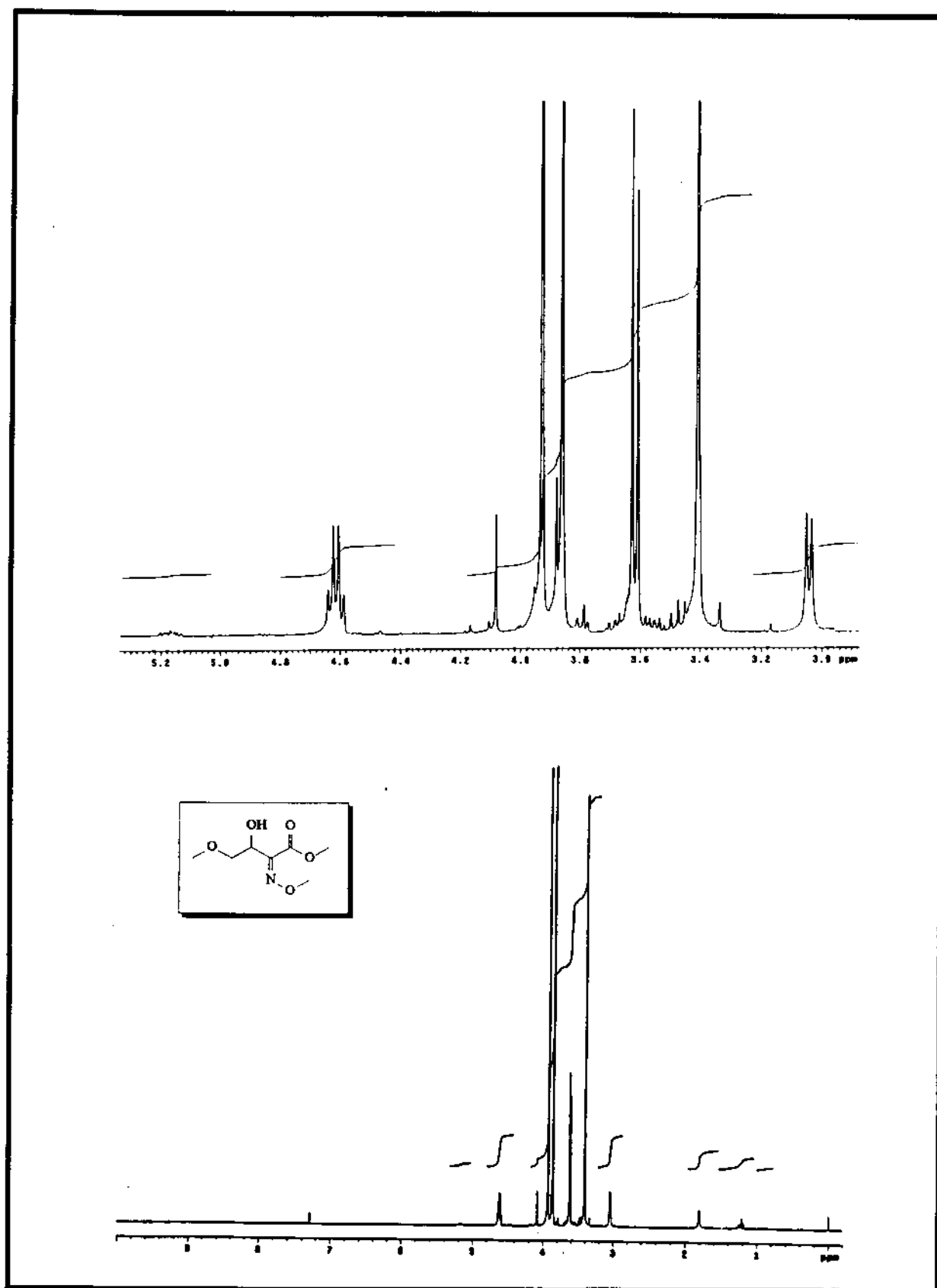
Espectro RMN-¹³ C DEPT: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-pentanoato de metila, (E)-35



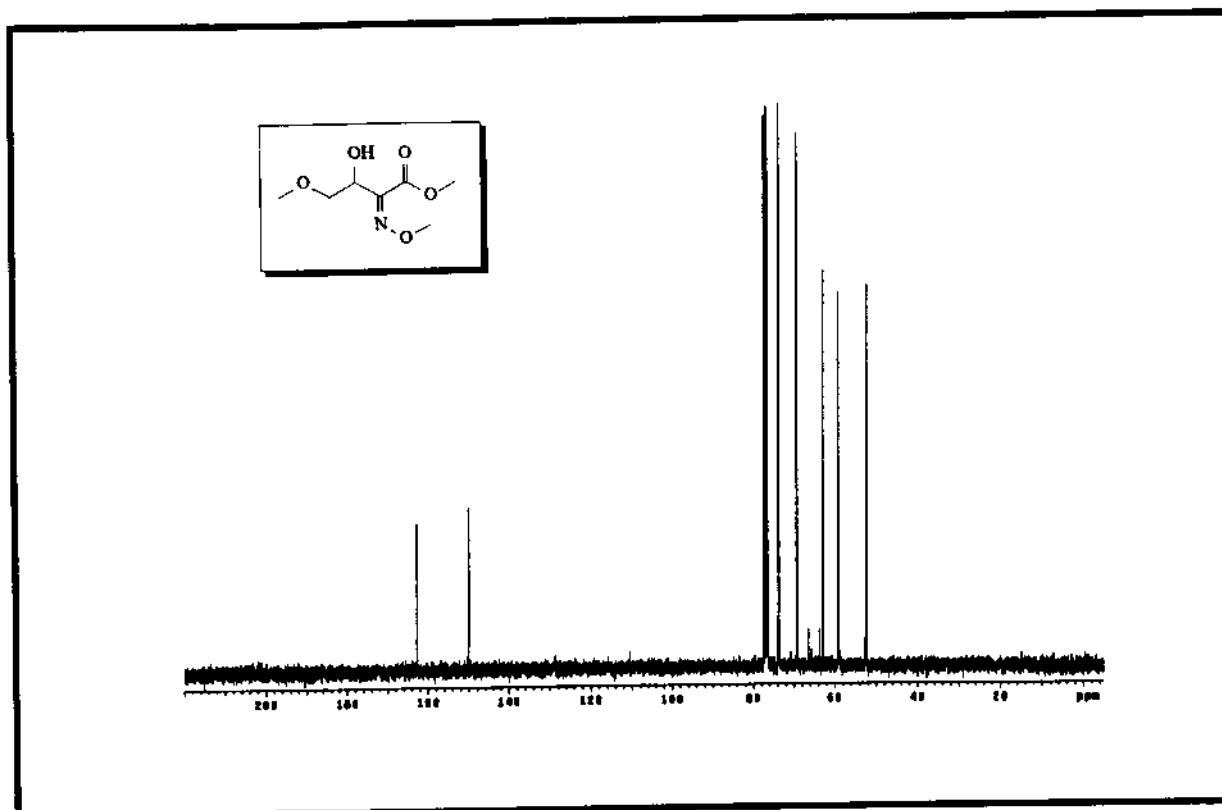
Espectro EM: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-butanoato de metila, (Z)-36



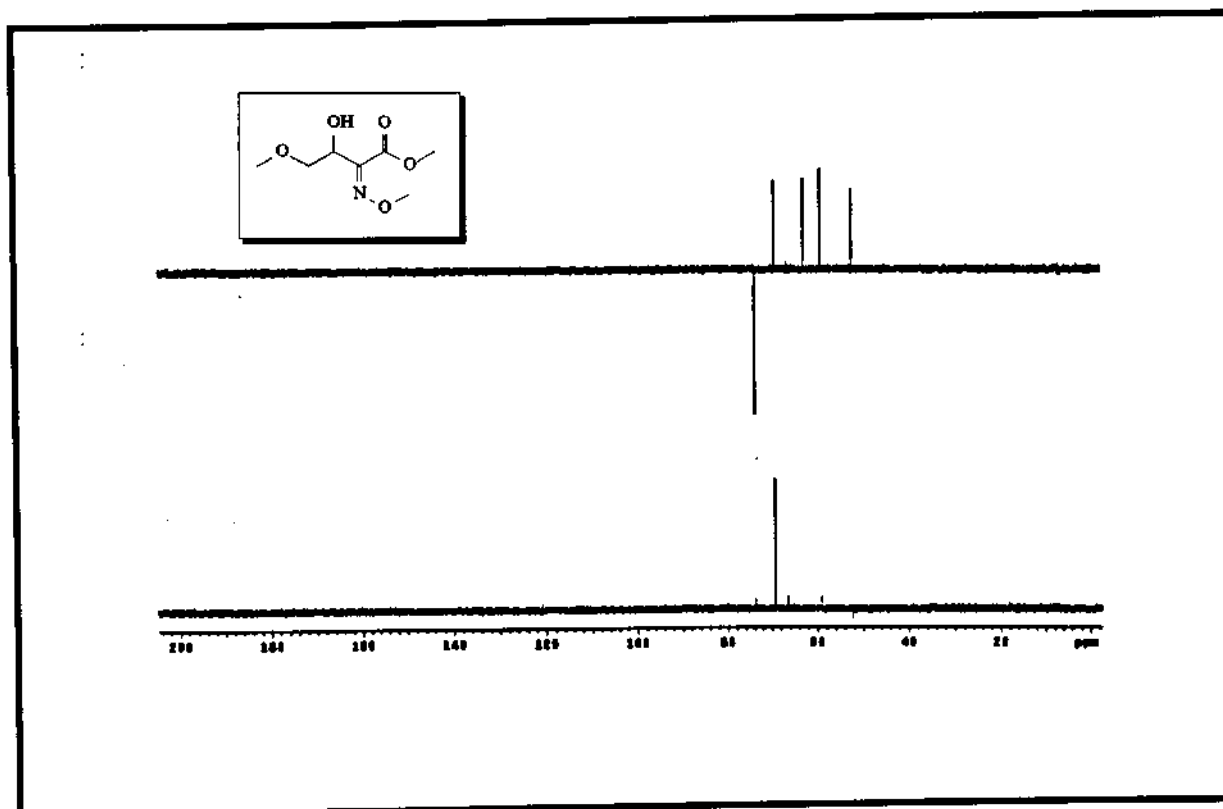
Espectro IV: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-butanoato de metila, (Z)-36



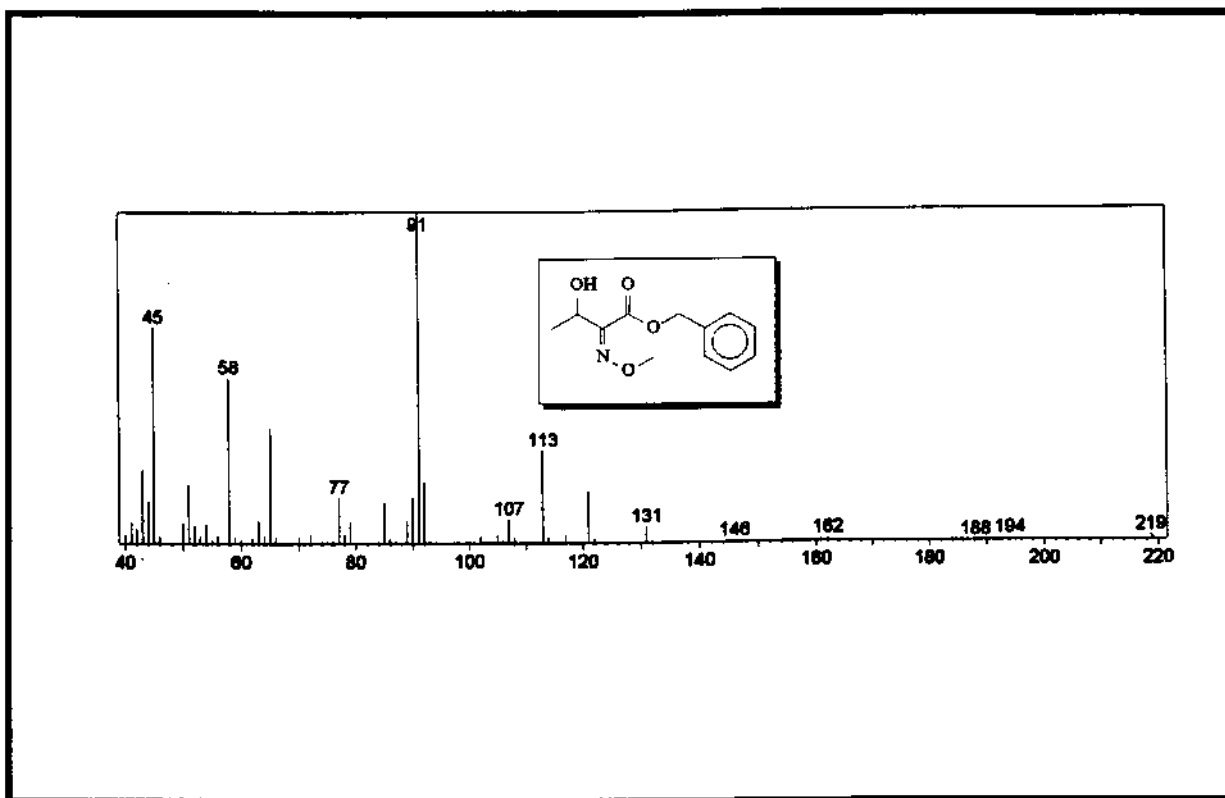
Espectro RMN- ^1H : 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-butanoato de metila, (Z)-36



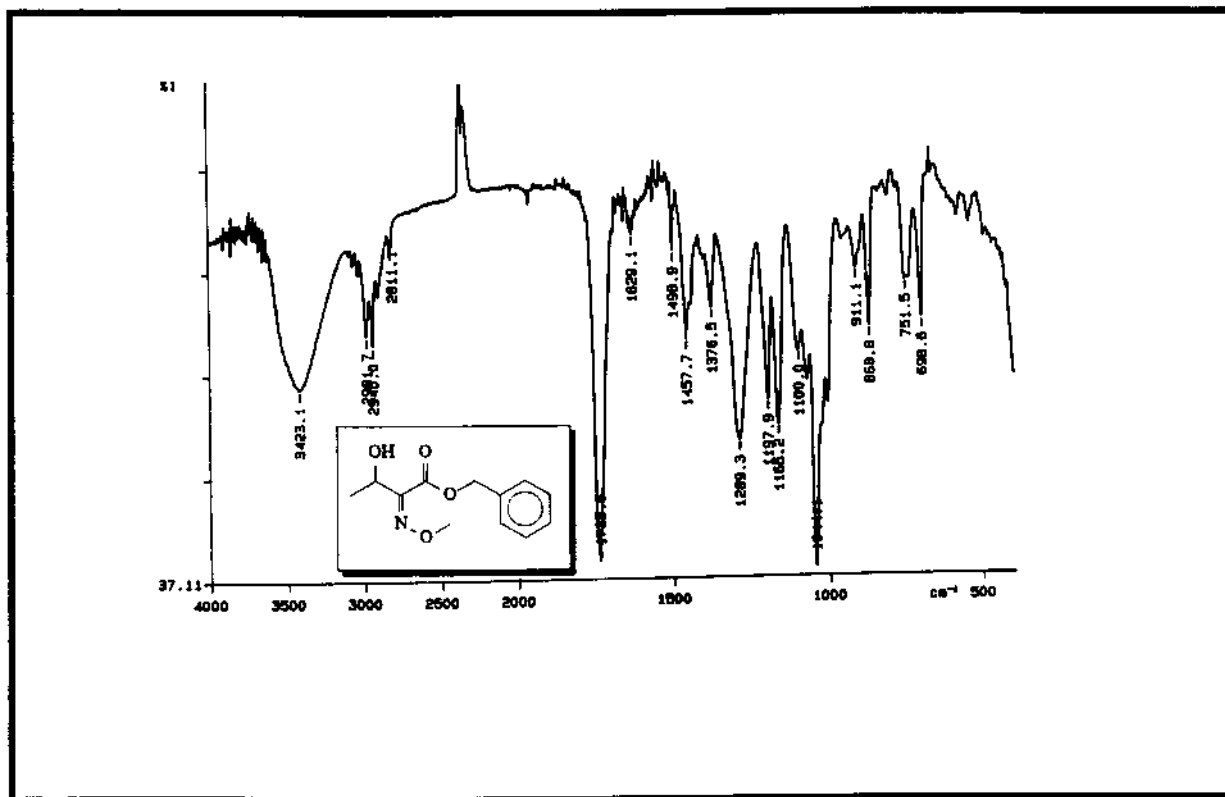
Espectro RMN- ^{13}C : 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-butanoato de metila, (Z)-36



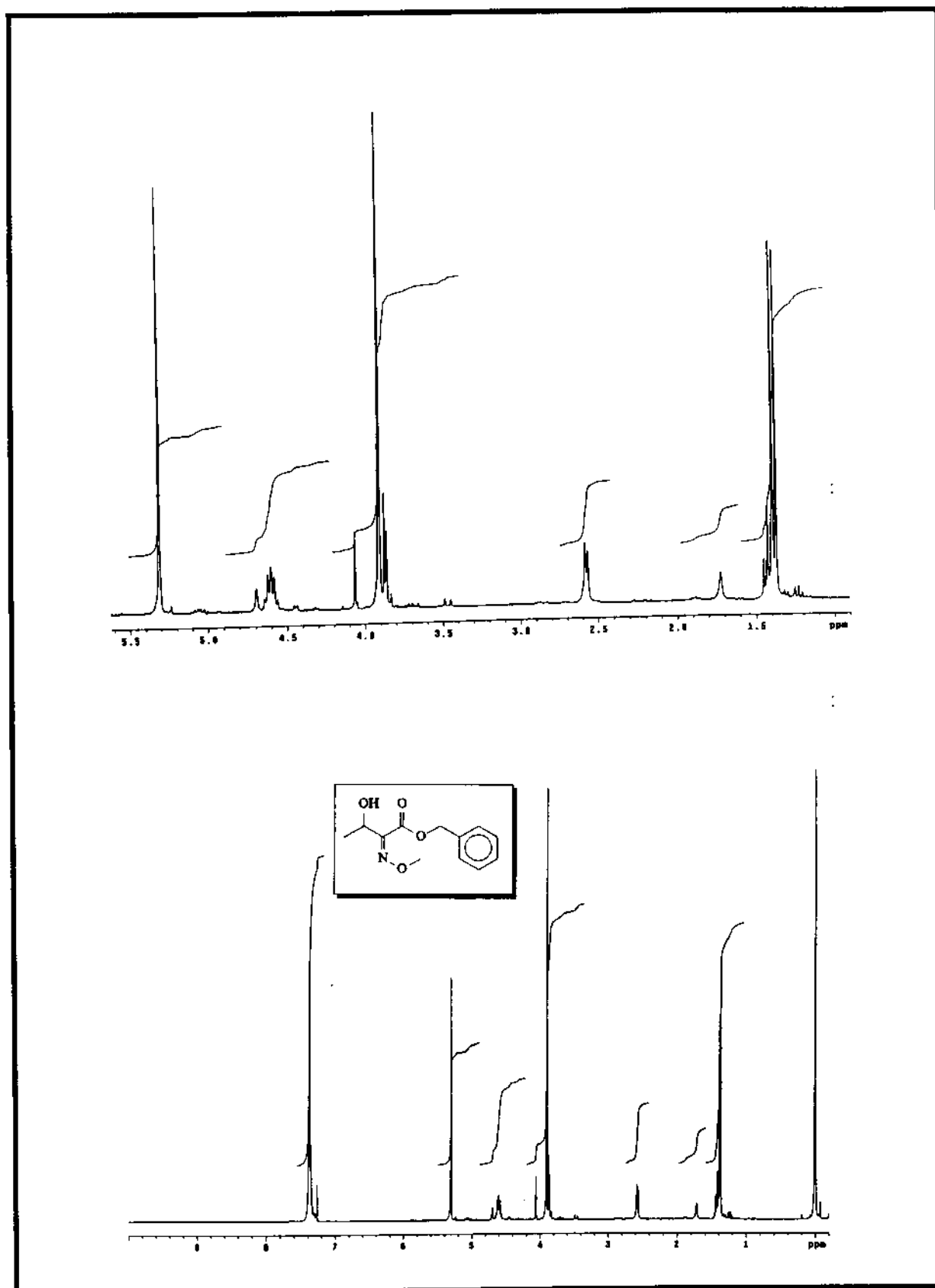
Espectro RMN- ^{13}C DEPT: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-4-metóxi-butanoato de metila, (Z)-36



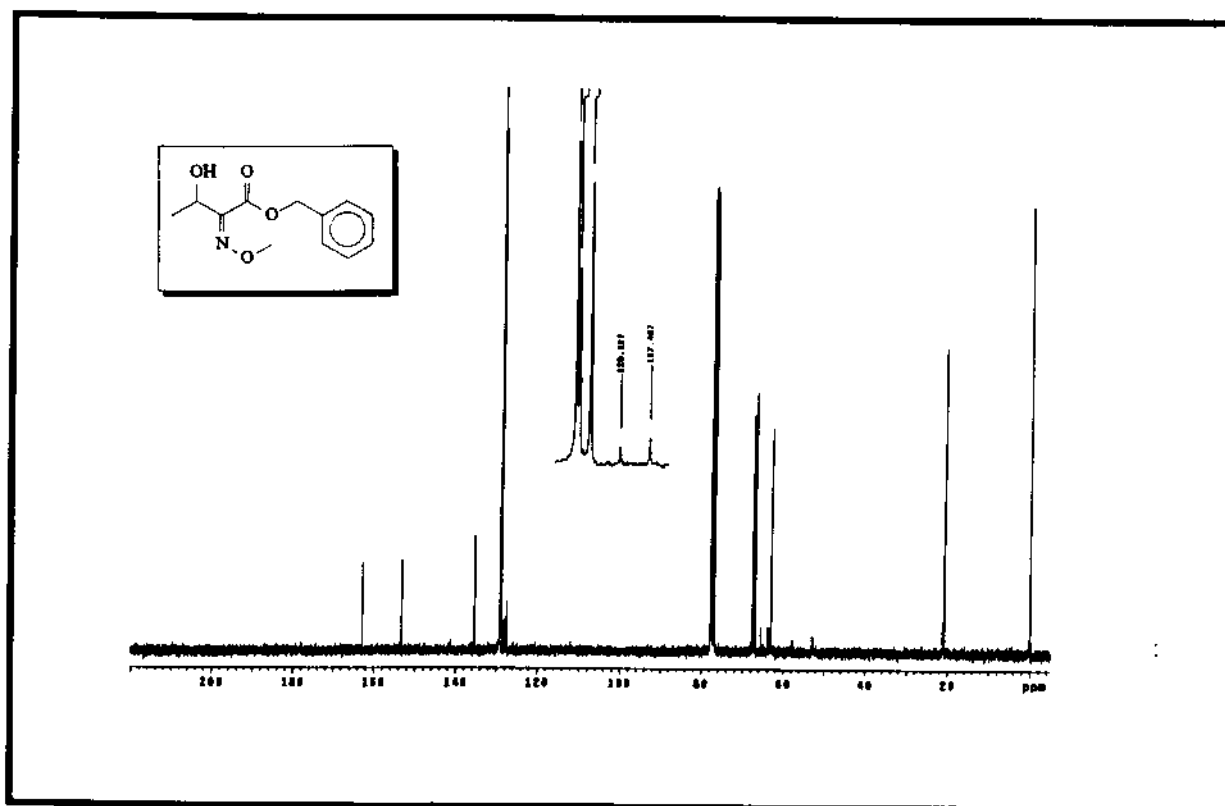
Espectro EM: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (Z)-37



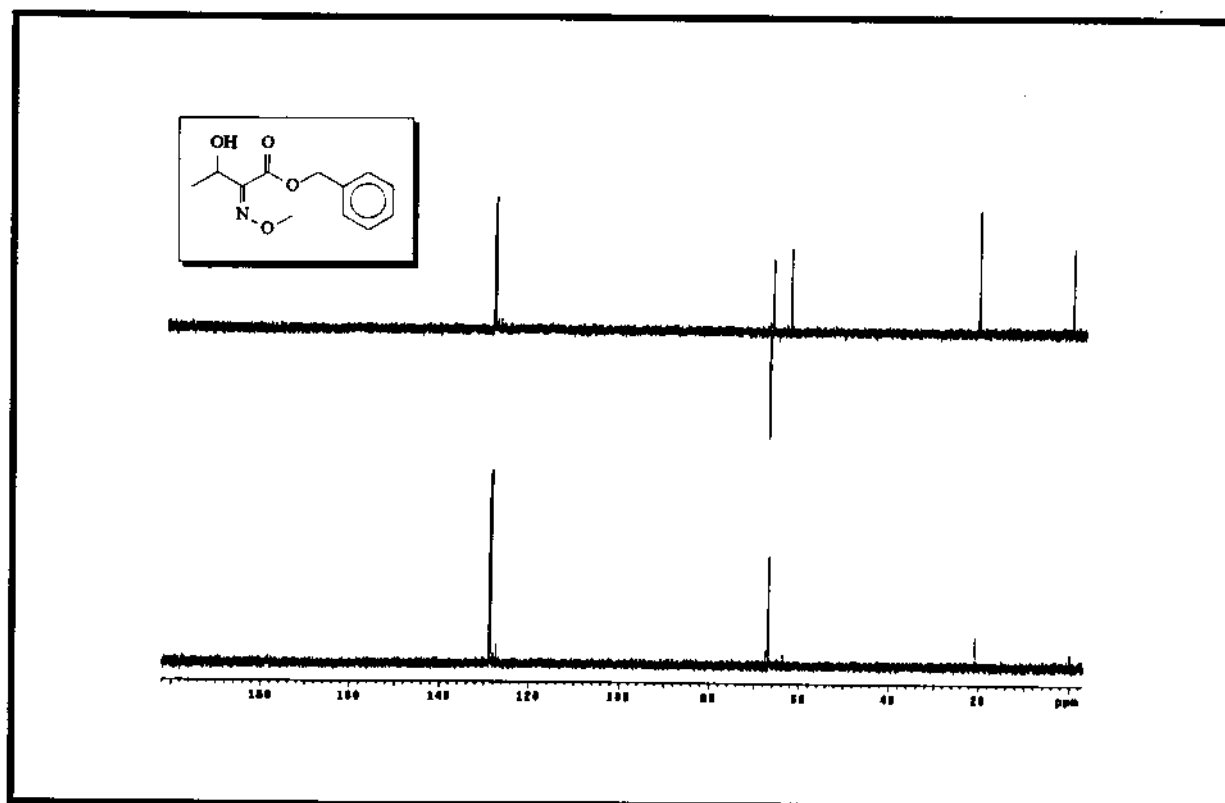
Espectro IV: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (Z)-37



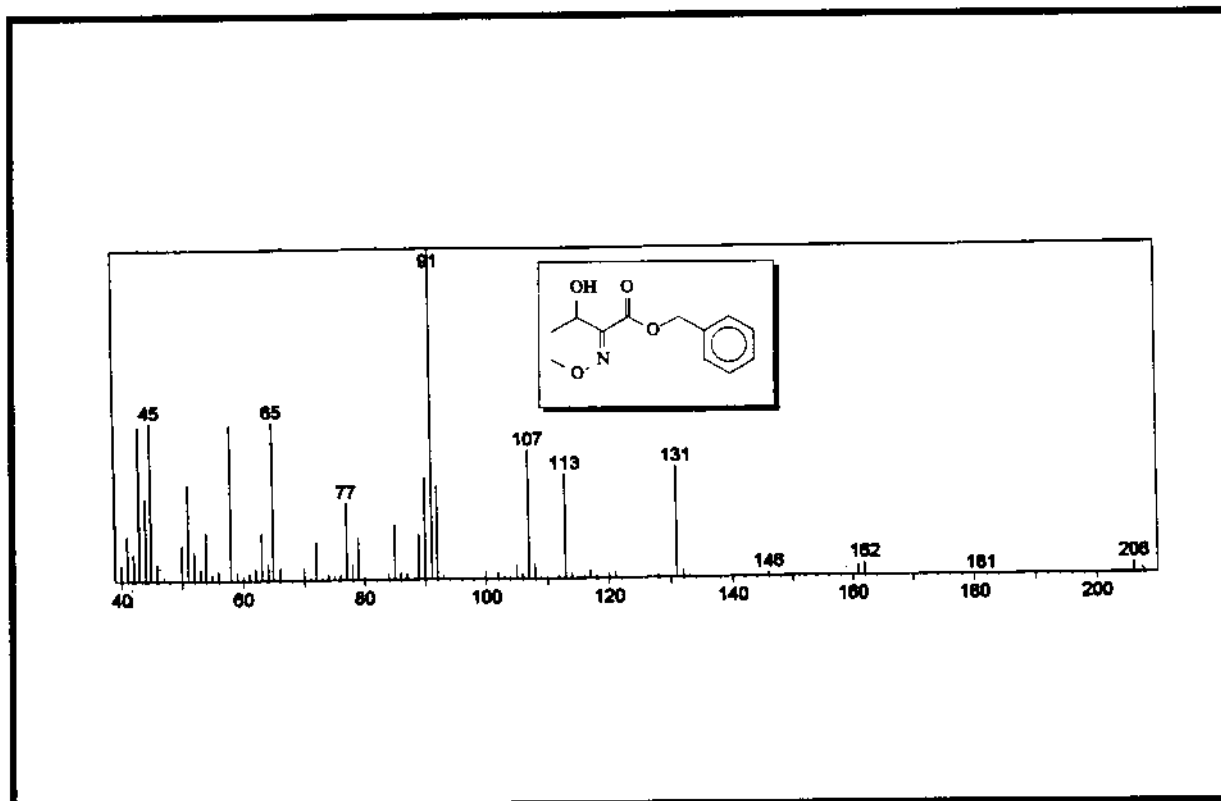
Espectro RMN- ^1H : 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (Z)-37



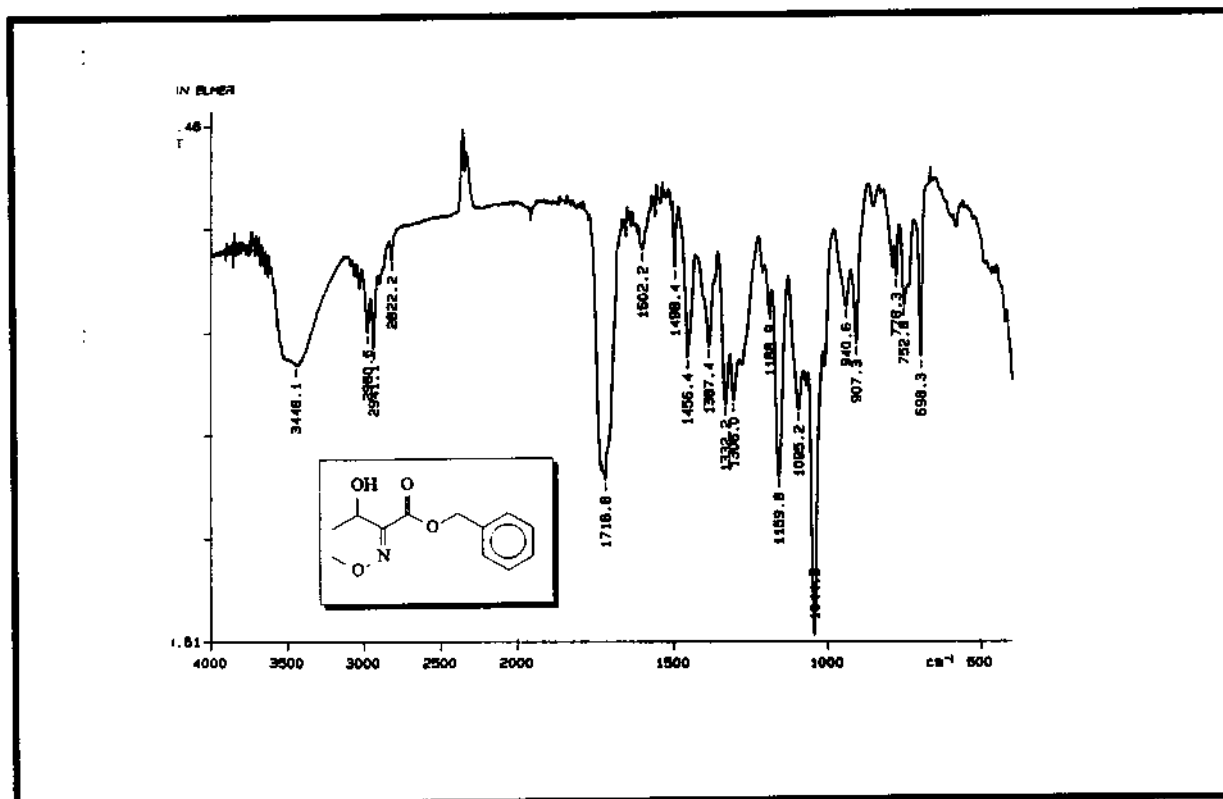
Espectro RMN- ^{13}C : 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (Z)-37



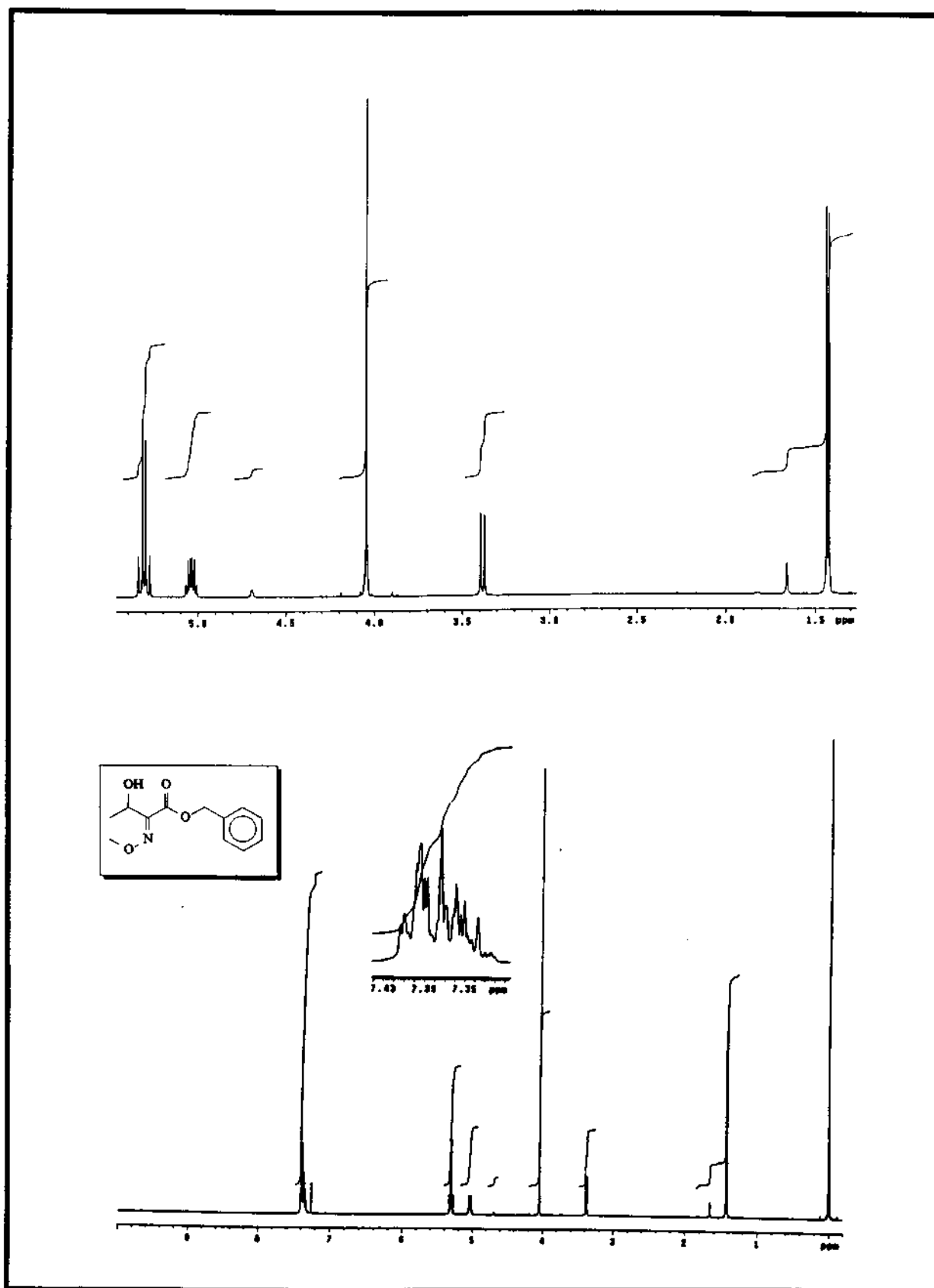
Espectro RMN- ^{13}C DEPT: 3-hidróxi-(Z)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (Z)-37



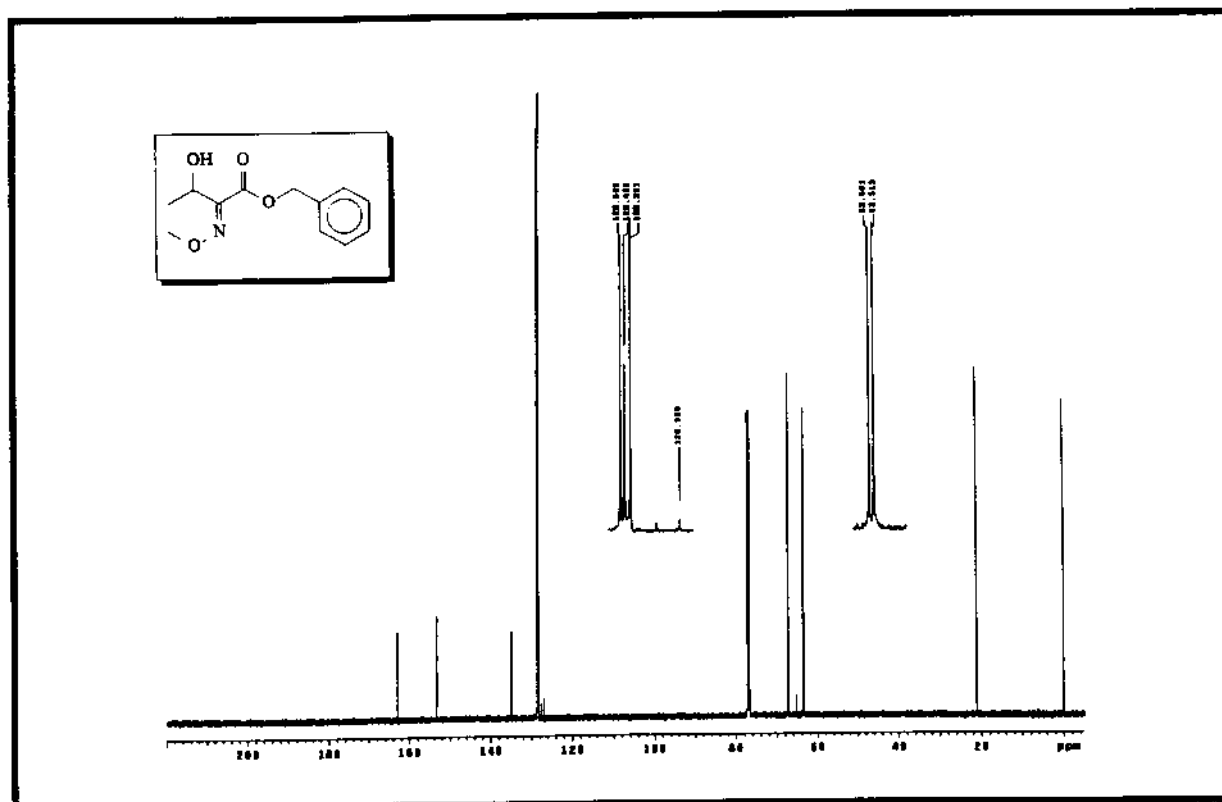
Espectro EM: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (E)-37



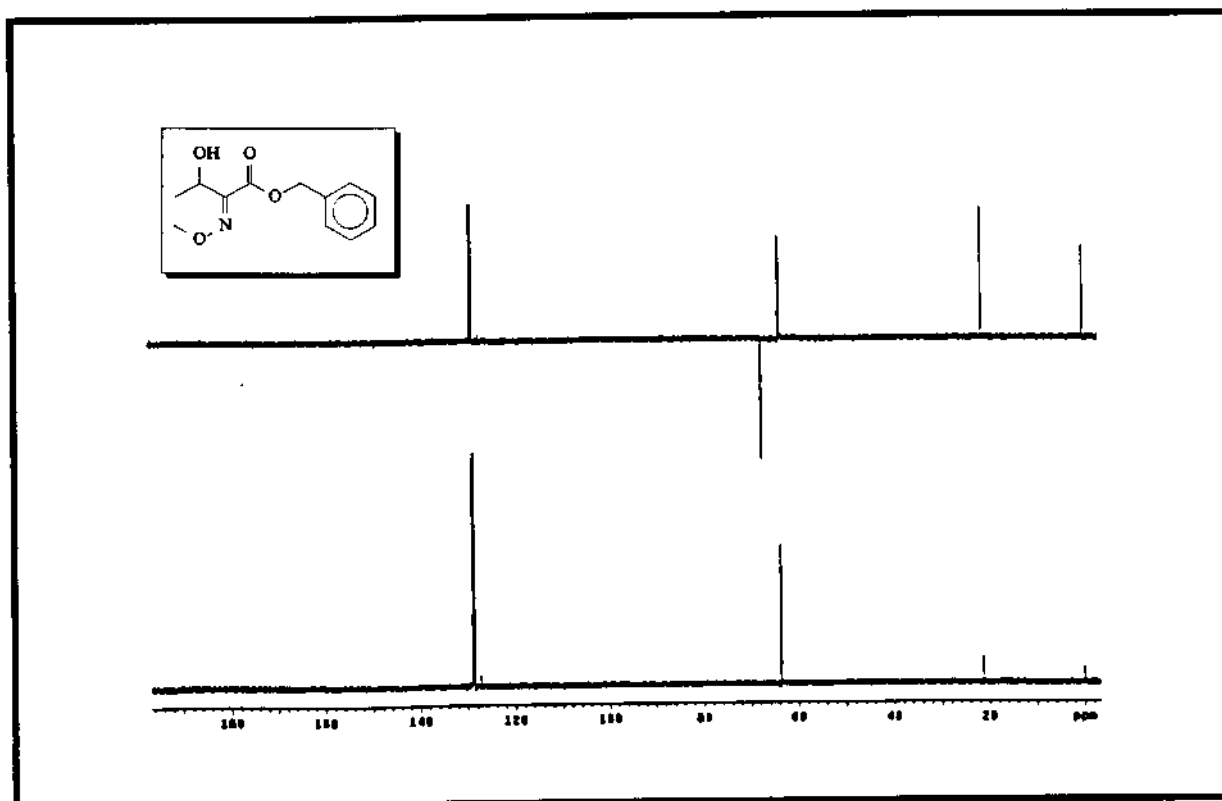
Espectro IV: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (E)-37



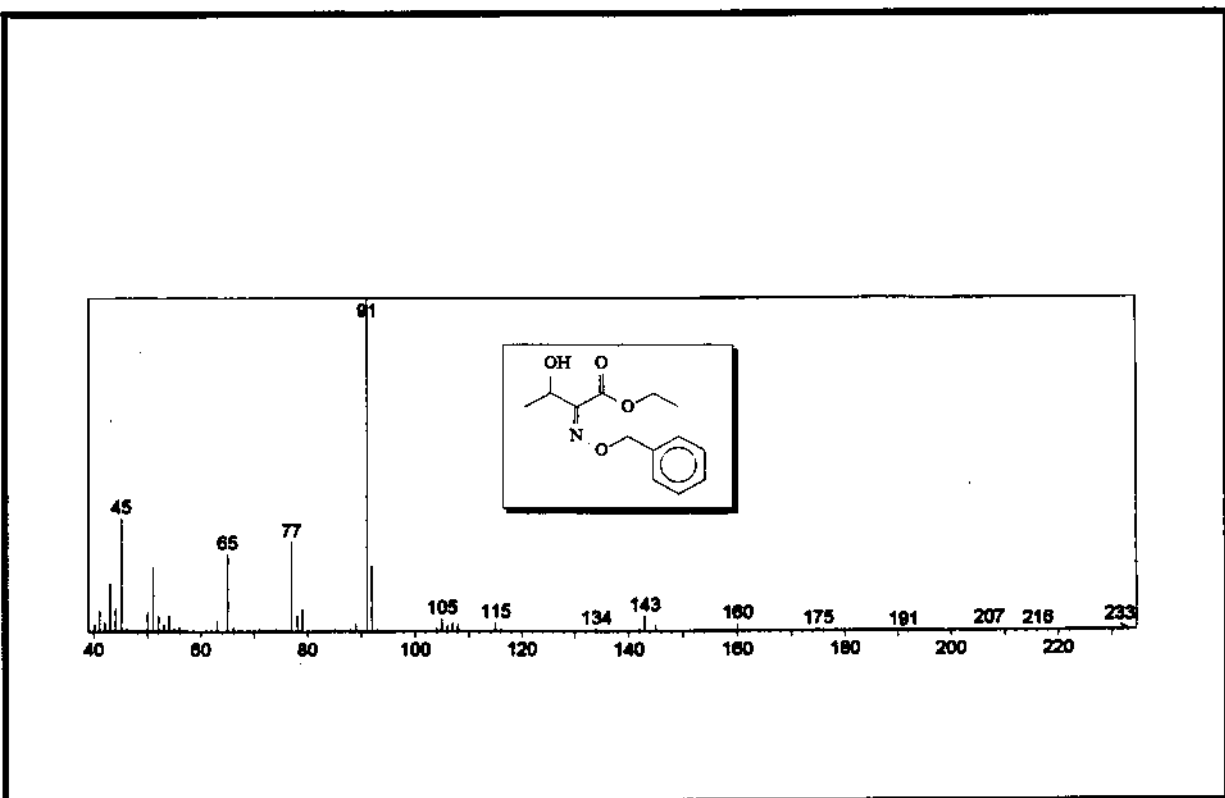
Espectro RMN- ^1H : 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (E)-37



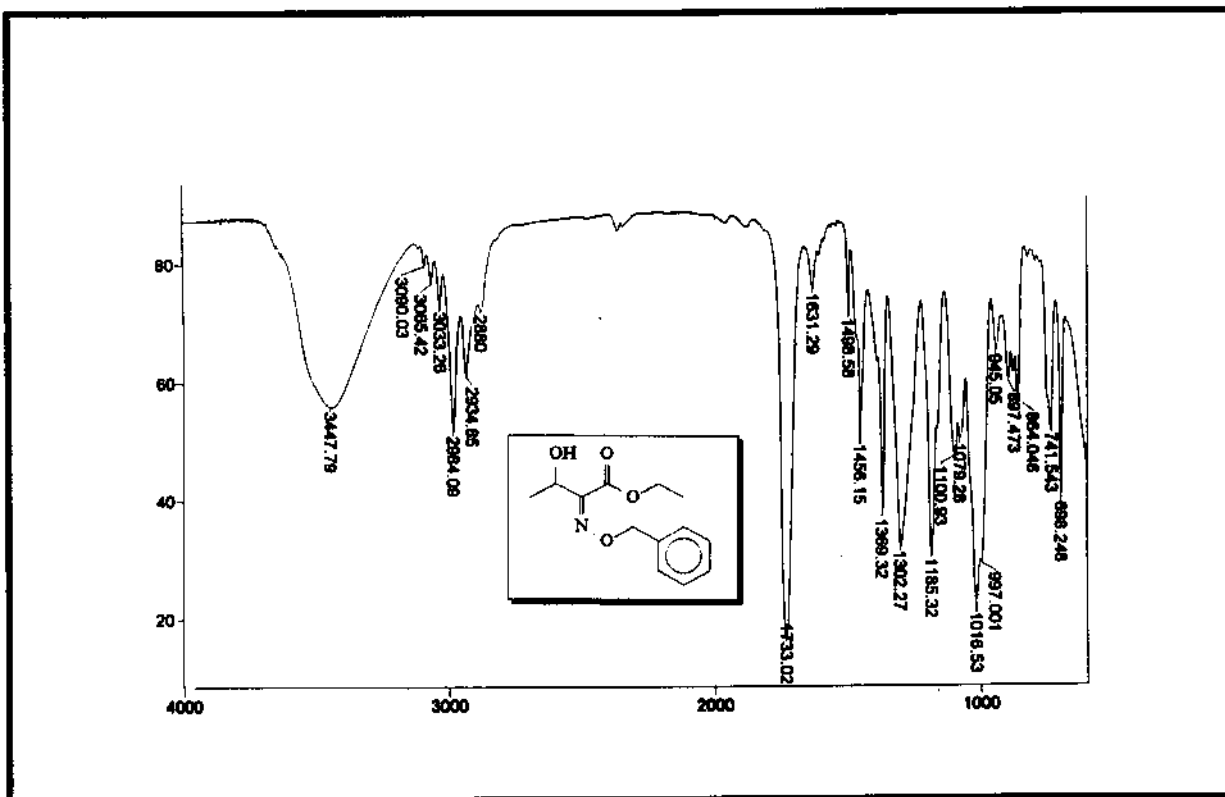
Espectro RMN- ^{13}C : 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (E)-37



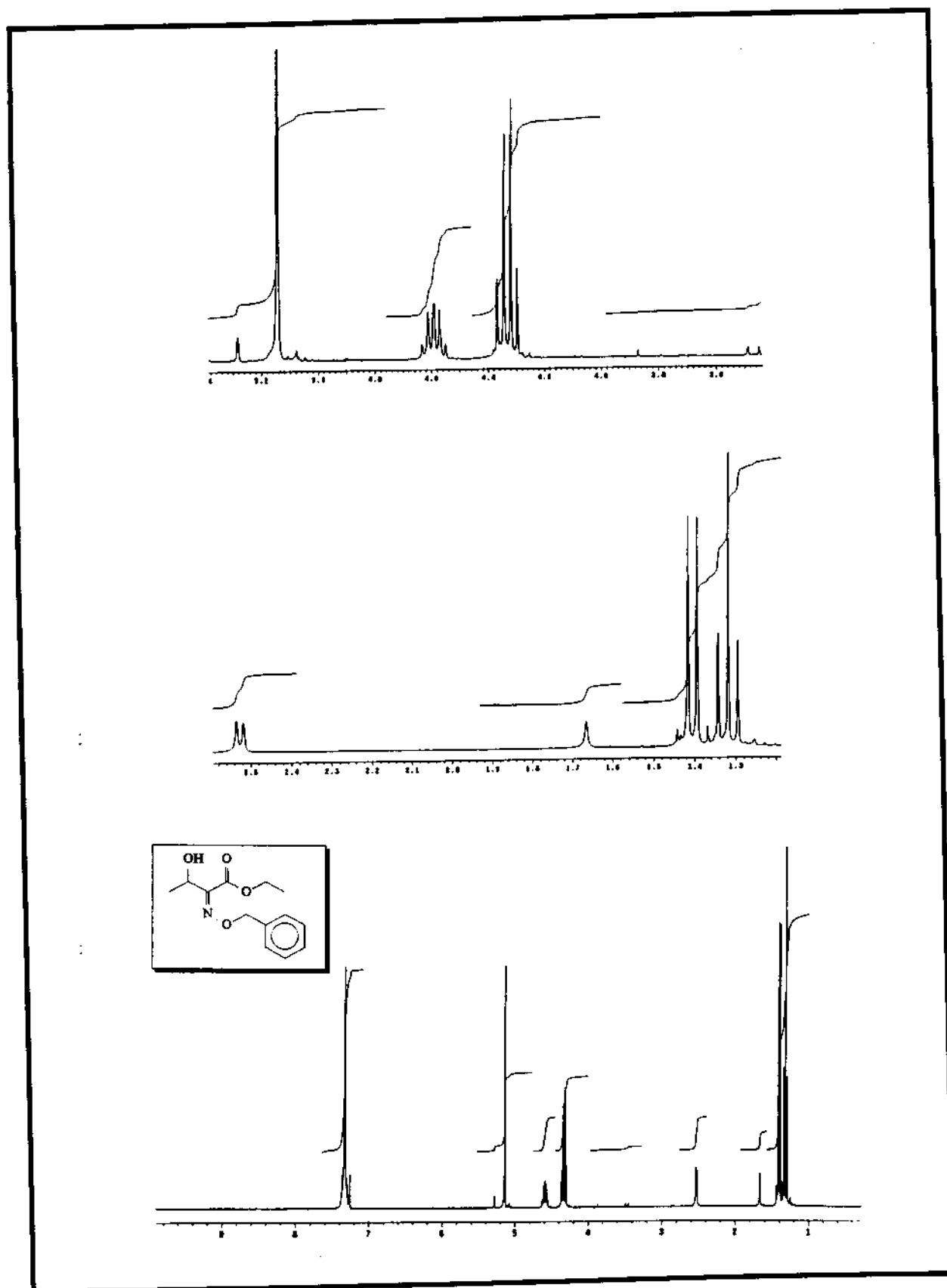
Espectro RMN- ^{13}C DEPT: 3-hidróxi-(E)-2-metoxilimino-butanoato de benzila, (E)-37



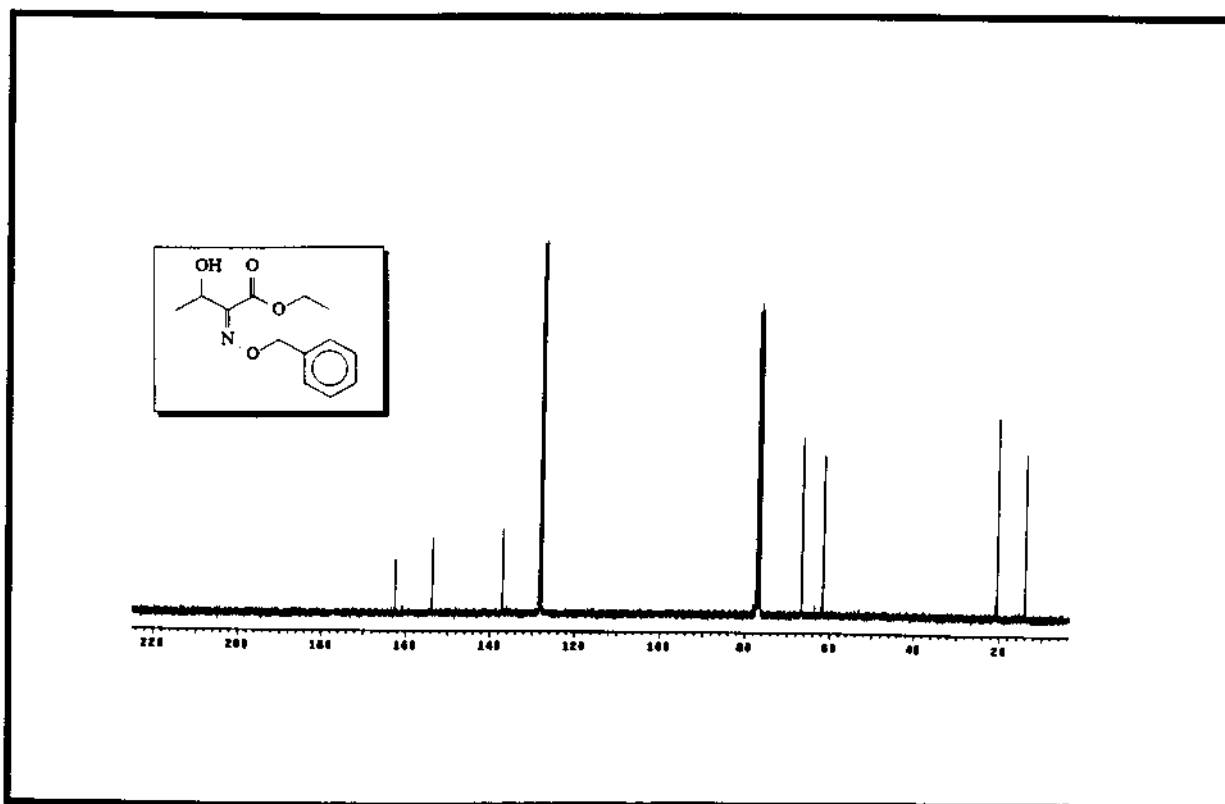
Espectro EM: 3-hidróxi-(Z)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (Z)-38



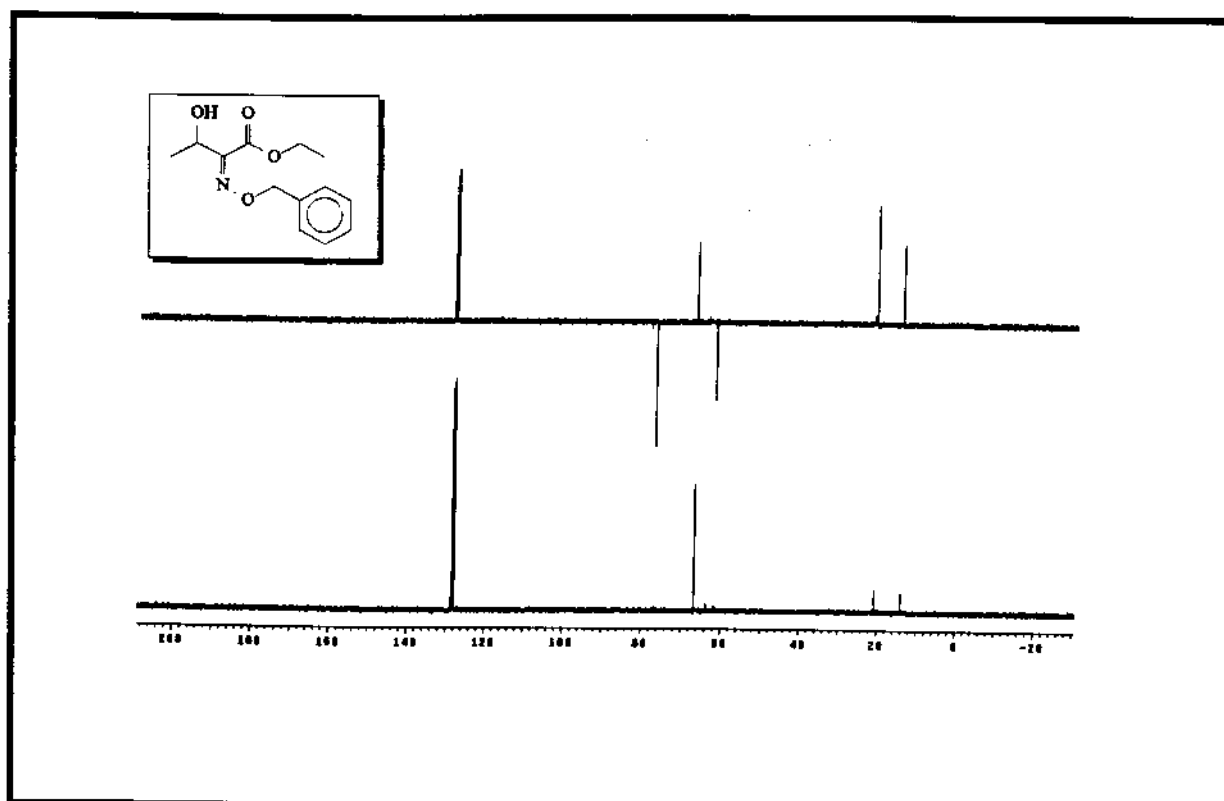
Espectro IV: 3-hidróxi-(Z)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (Z)-38



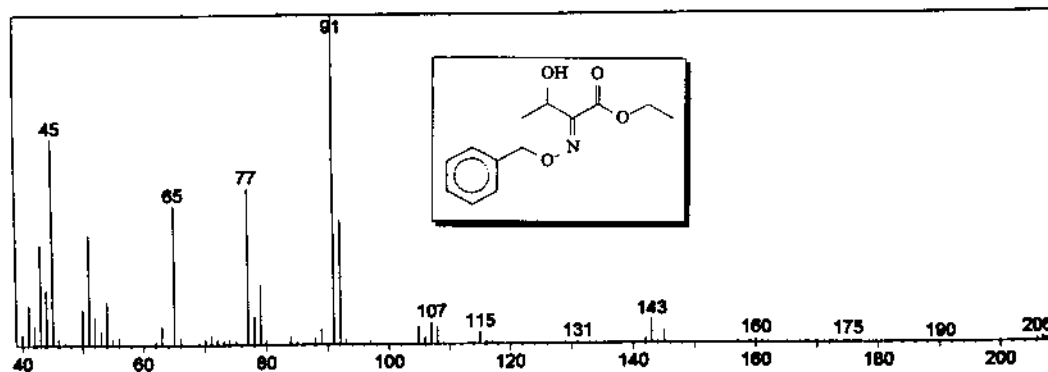
Espectro RMN- ^1H : 3-hidróxi-(Z)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (Z)-38



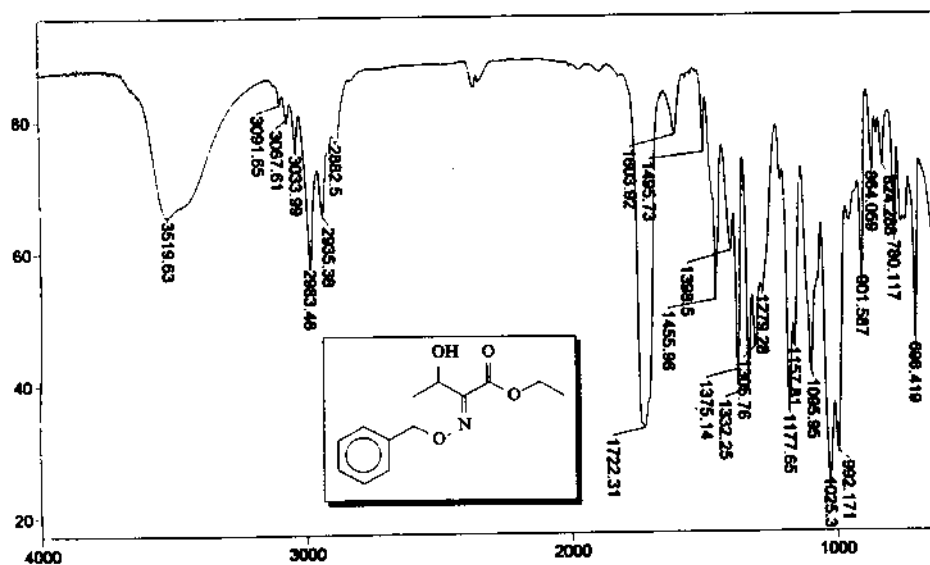
Espectro RMN- ^{13}C : 3-hidróxi-(Z)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (Z)-38



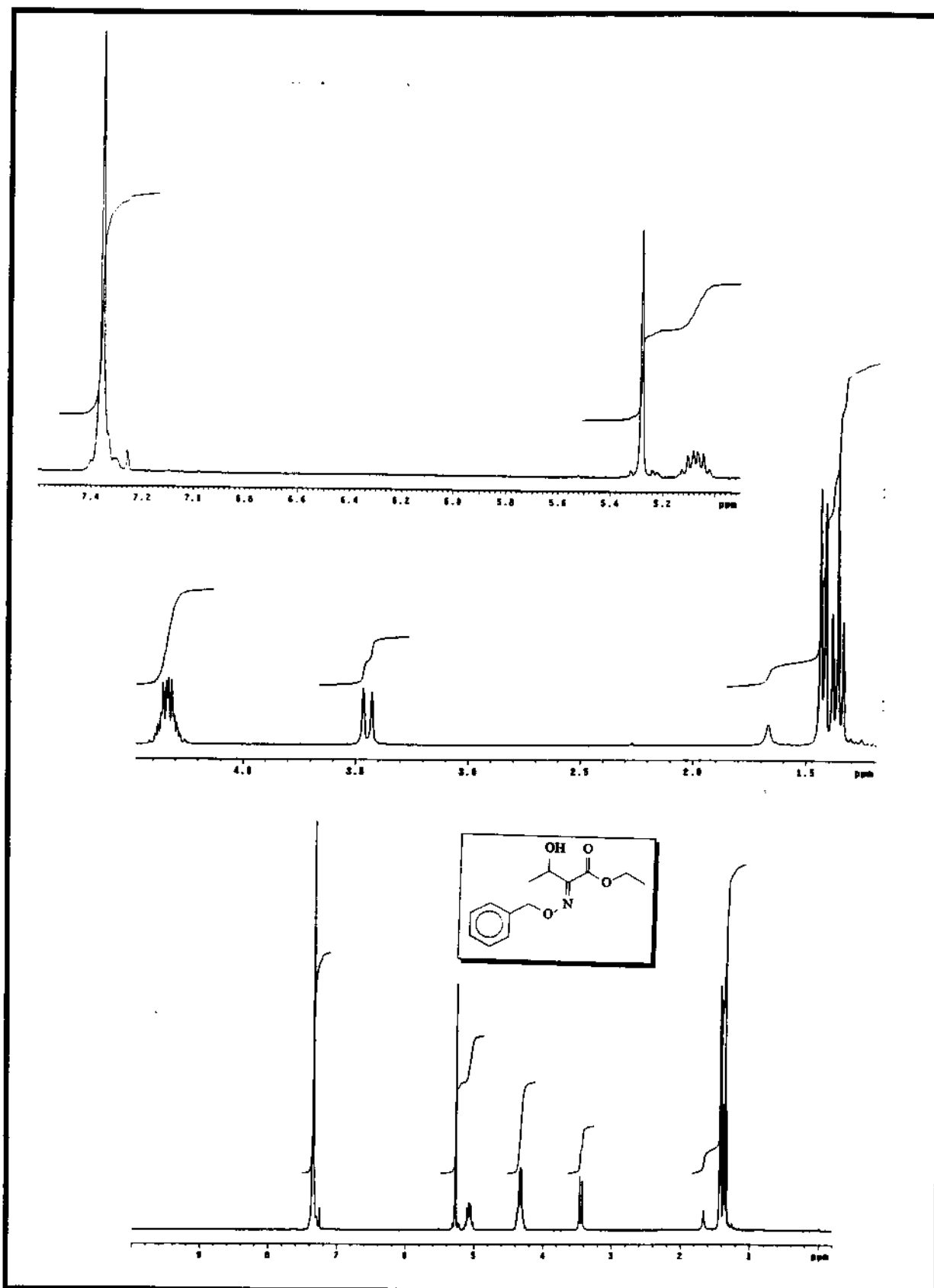
Espectro RMN- ^{13}C DEPT: 3-hidróxi-(Z)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (Z)-38



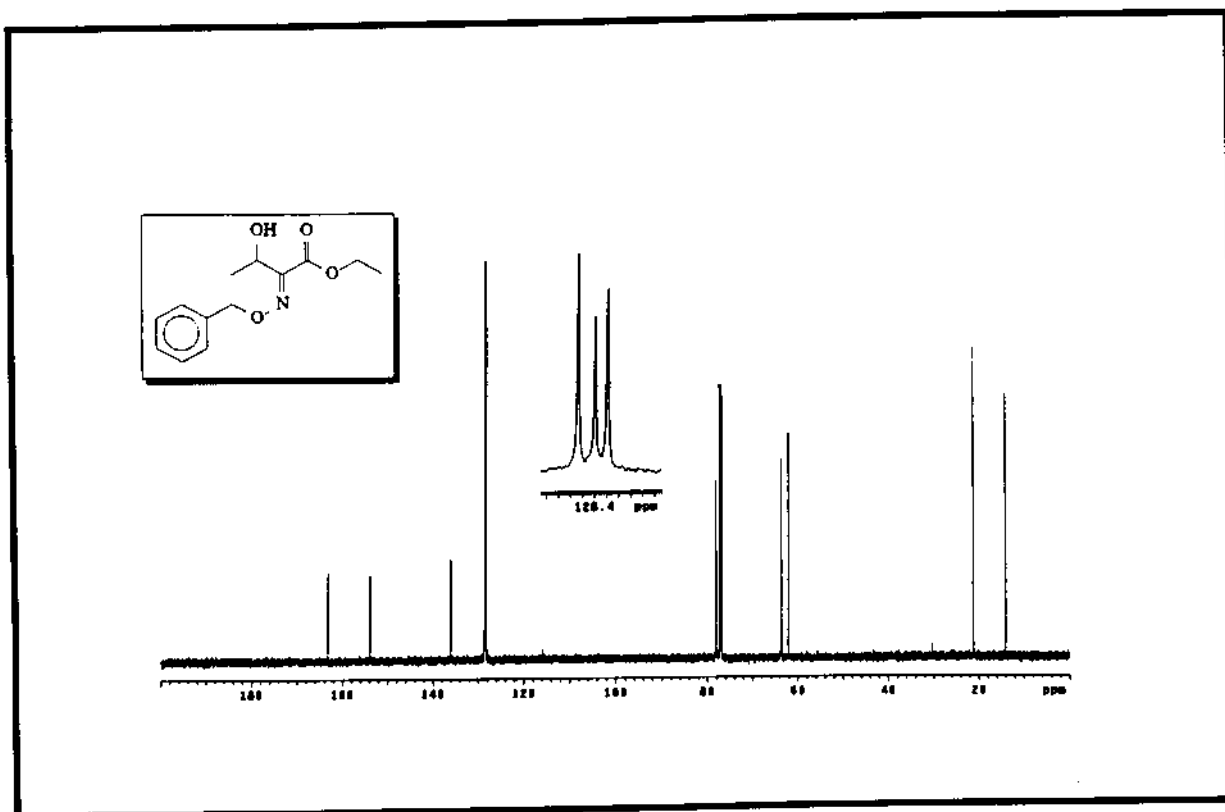
Espectro EM: 3-hidróxi-(E)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (E)-38



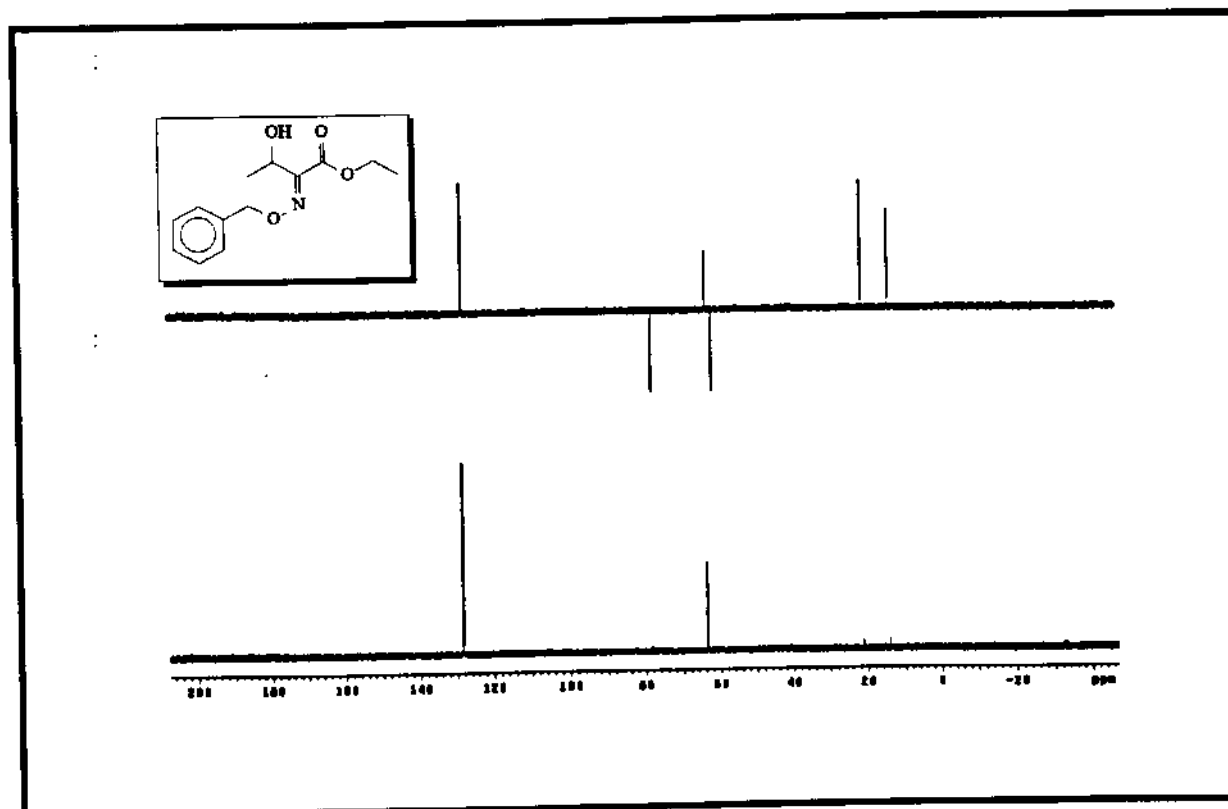
Espectro IV: 3-hidróxi-(E)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (E)-38



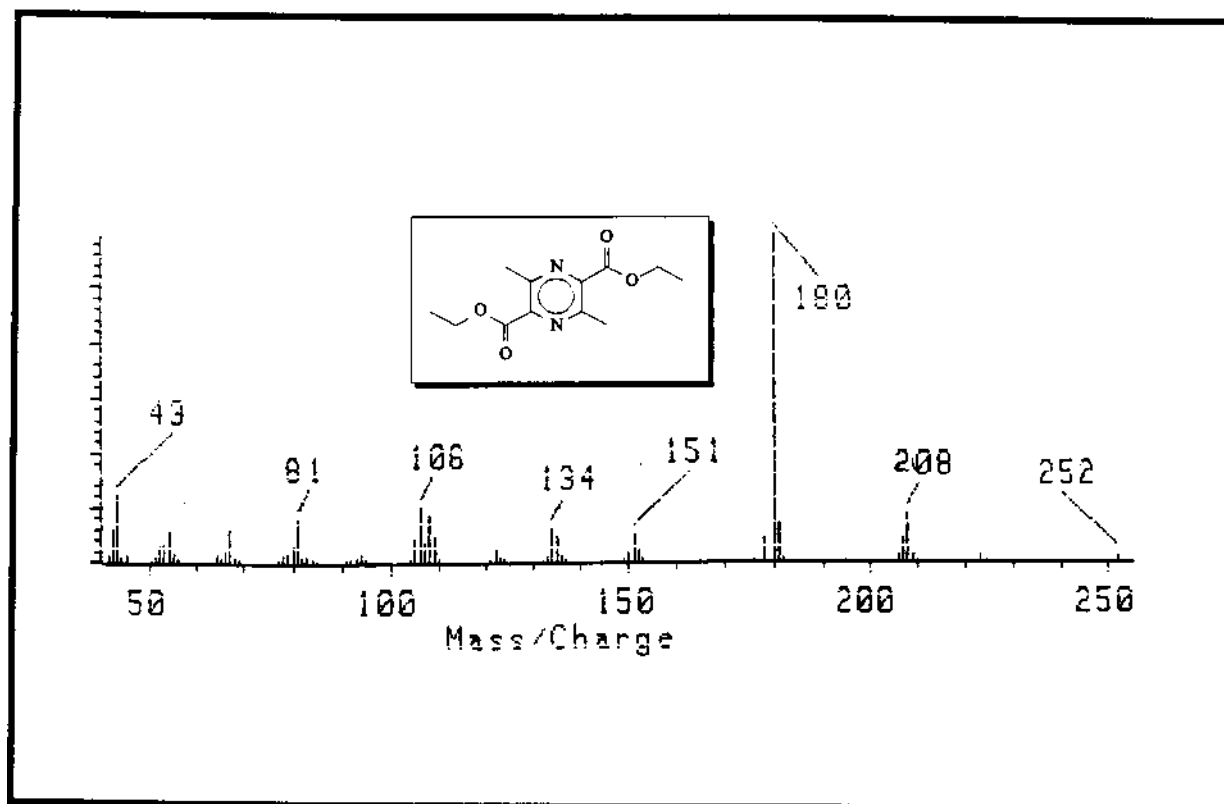
Espectro RMN- ^1H : 3-hidróxi-(E)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (E)-38



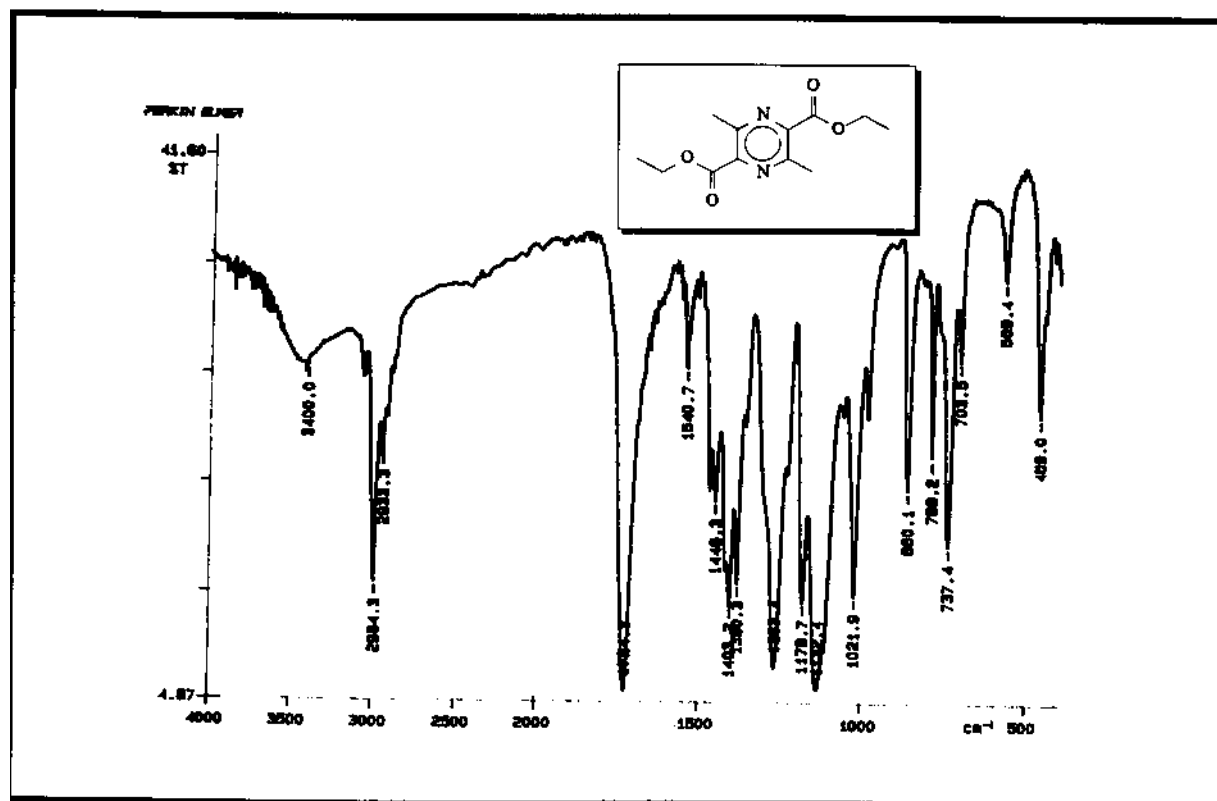
Espectro RMN-¹³C: 3-hidróxi-(E)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (E)-38



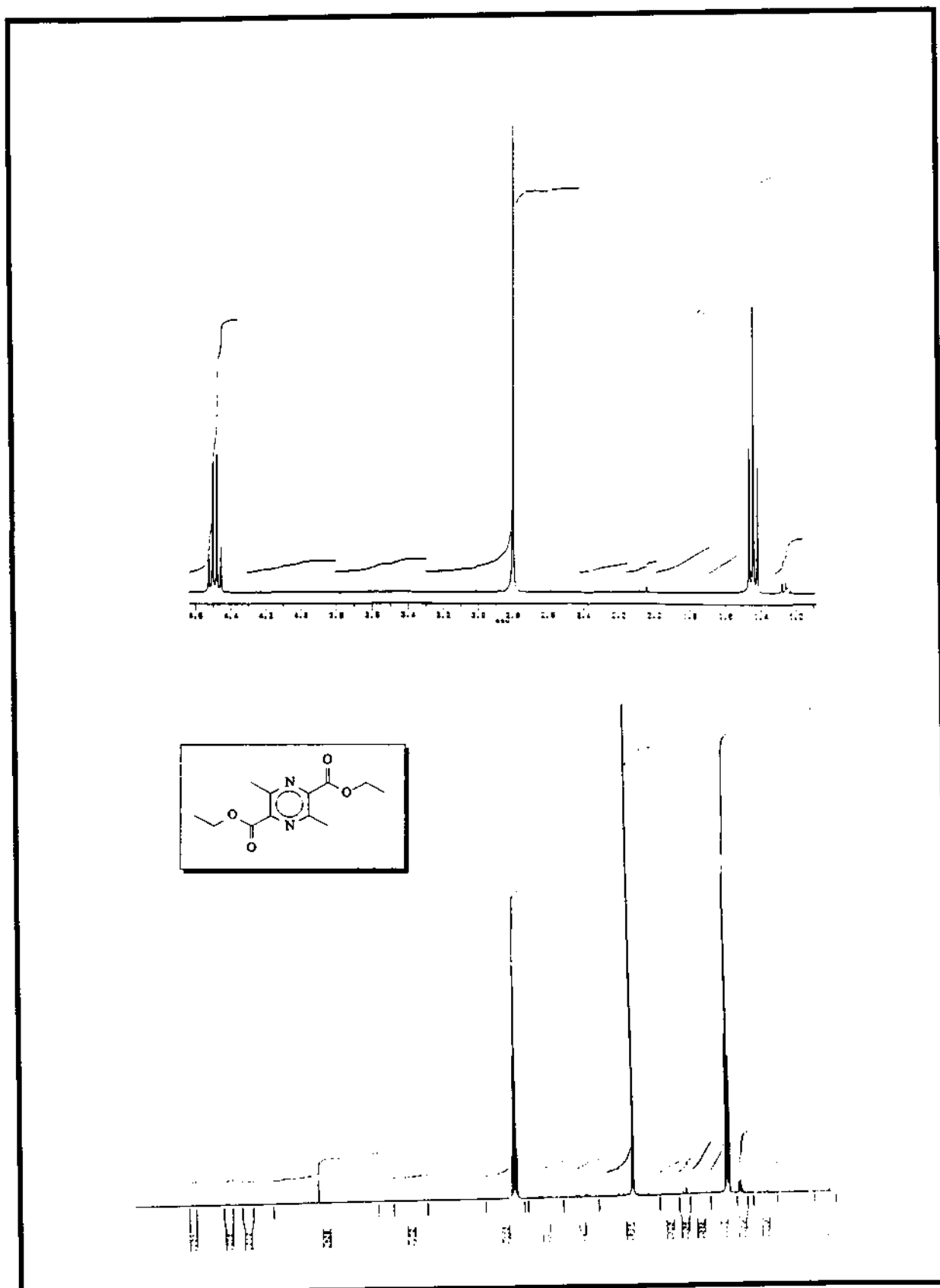
Espectro RMN-¹³C DEPT: 3-hidróxi-(E)-2-benzoxilimino-butanoato de etila, (E)-38



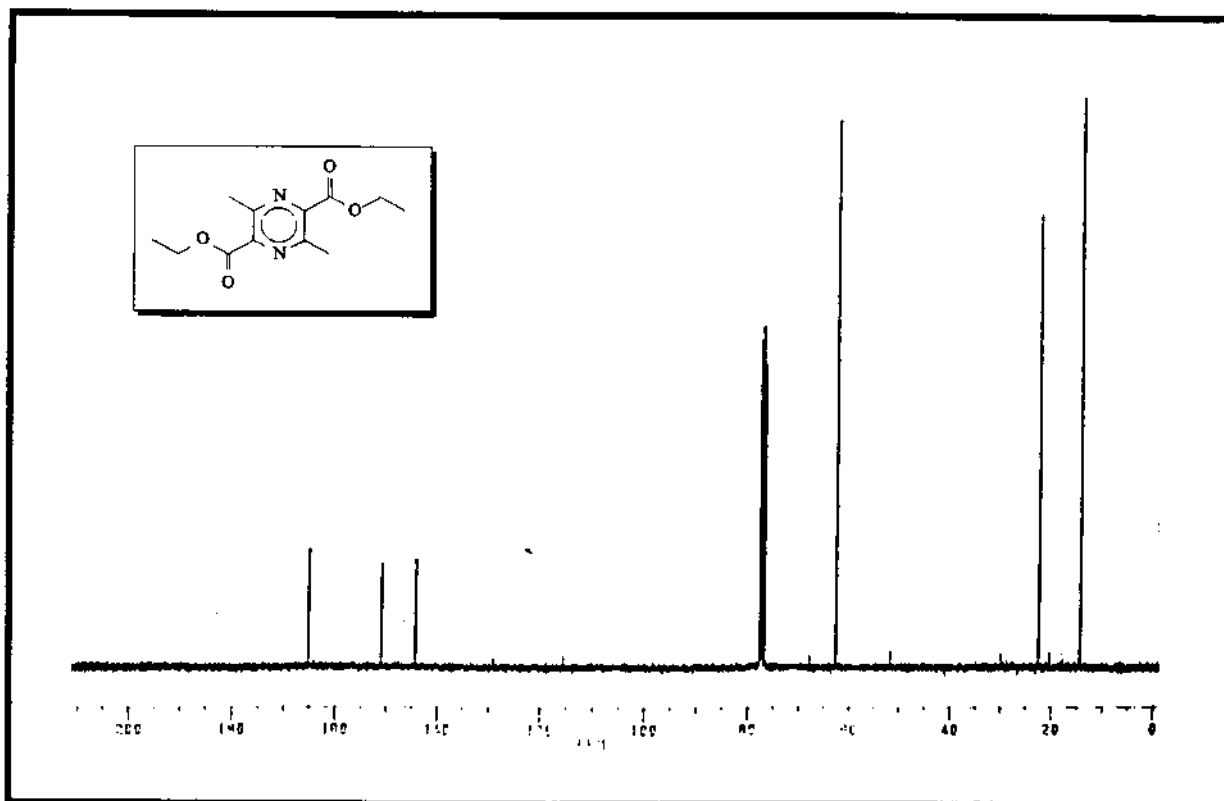
Espectro EM: 3,6-dimetil-pirazina-2,5-dicarboxilato de etila, 39



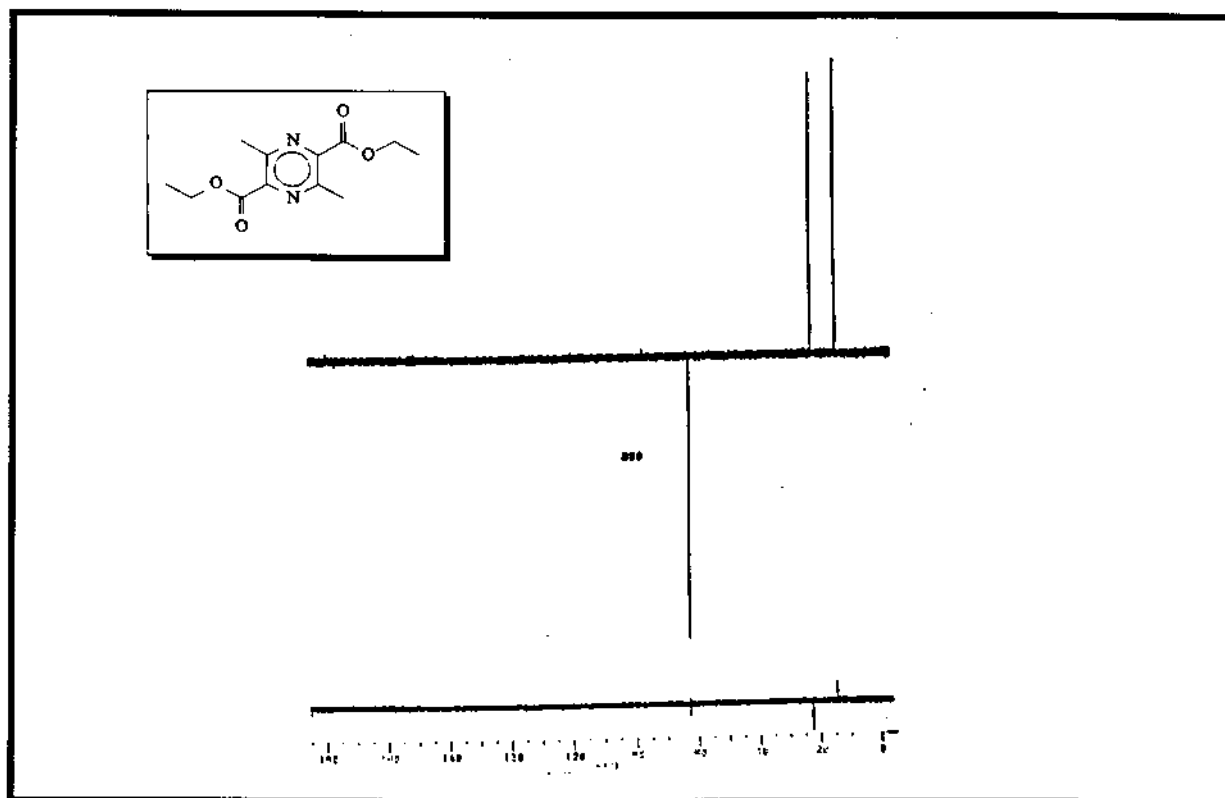
Espectro IV: 3,6-dimetil-pirazina-2,5-dicarboxilato de etila, 39



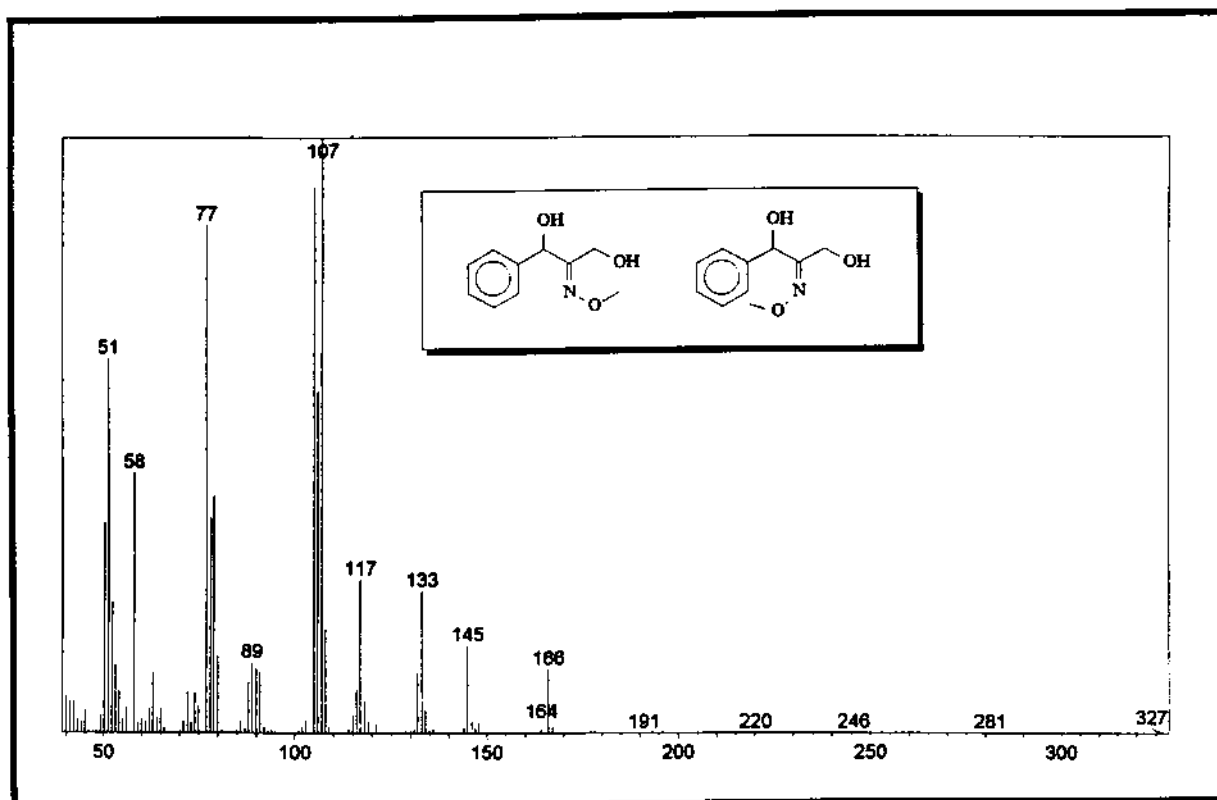
Espectro RMN- ^1H : 3,6-dimetil-pirazina-2,5-dicarboxilato de etila, 39



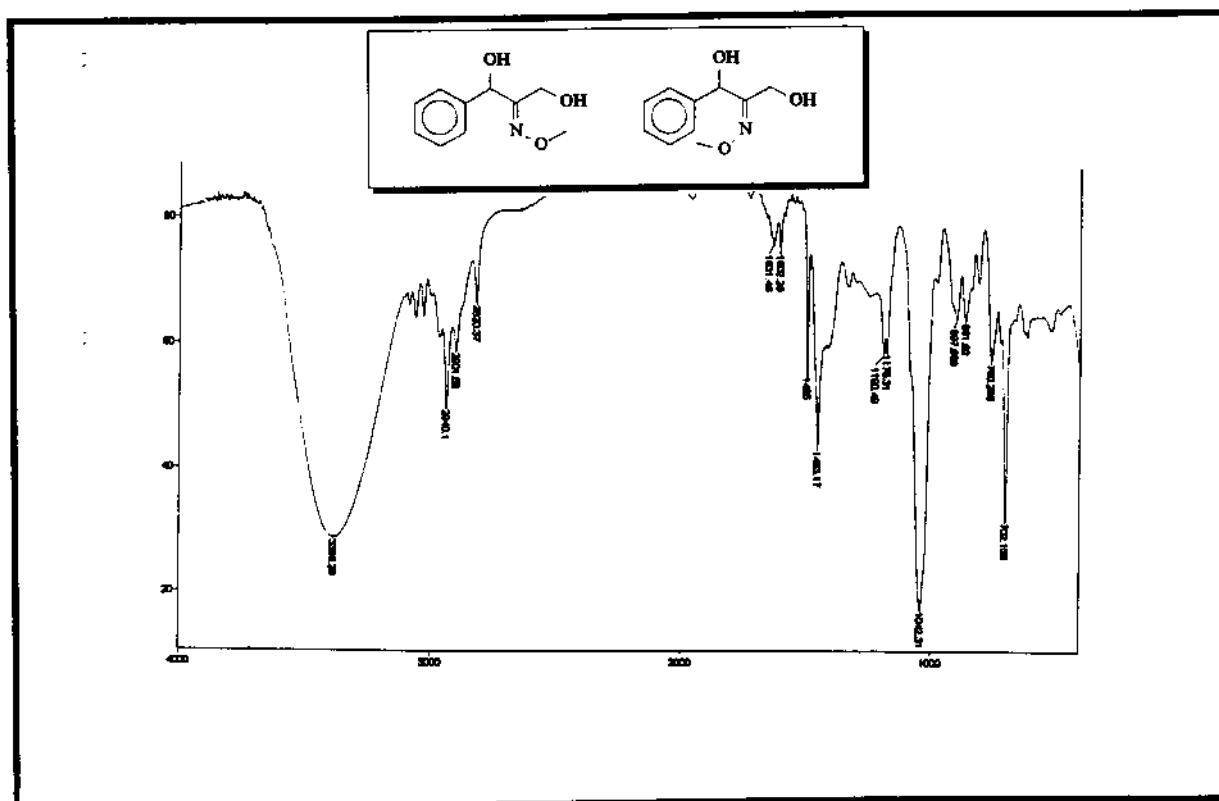
Espectro RMN-¹³ C: 3,6-dimetil-pirazina-2,5-dicarboxilato de etila, 39



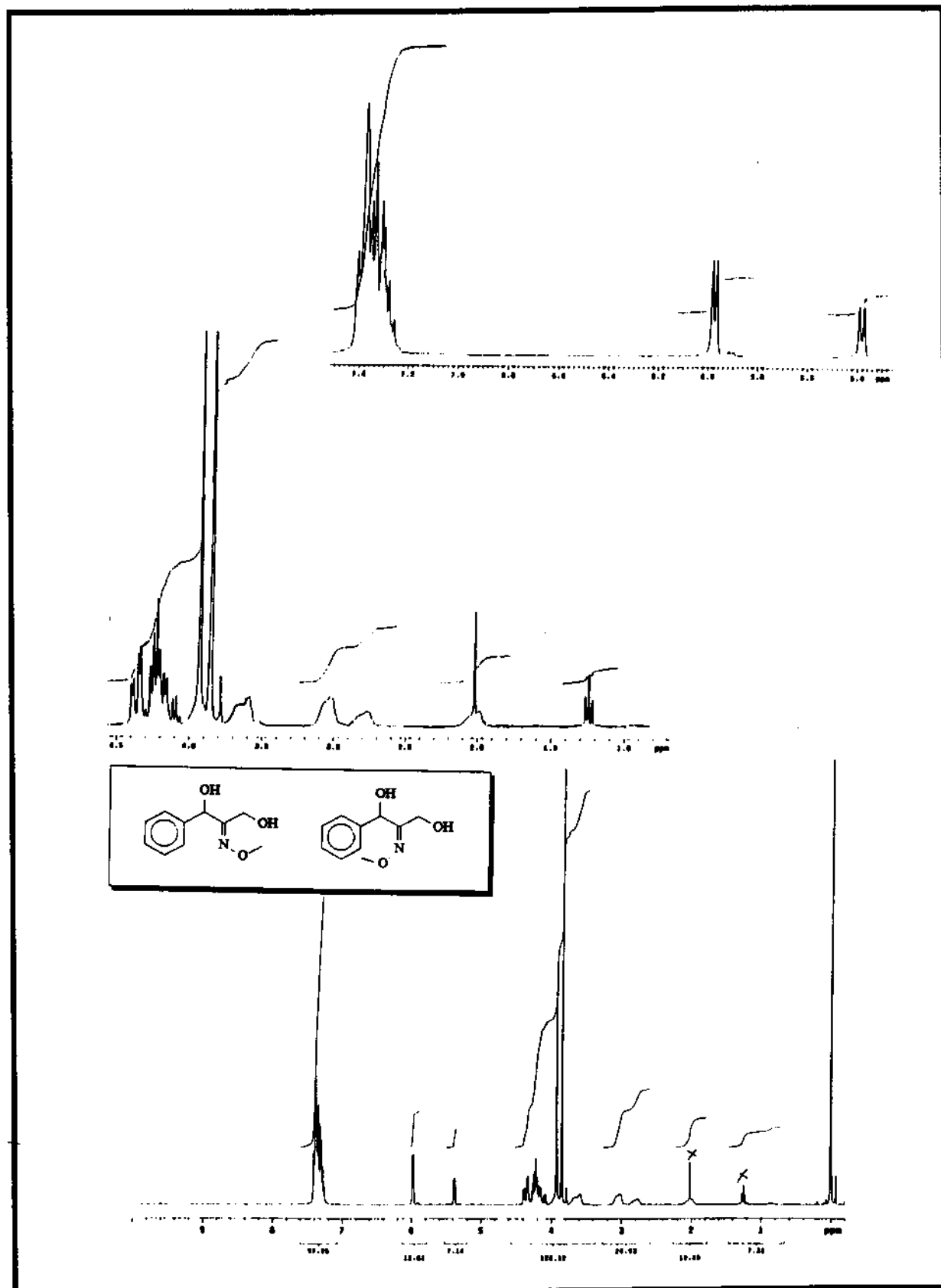
Espectro RMN-¹³ C DEPT: 3,6-dimetil-pirazina-2,5-dicarboxilato de etila, 39



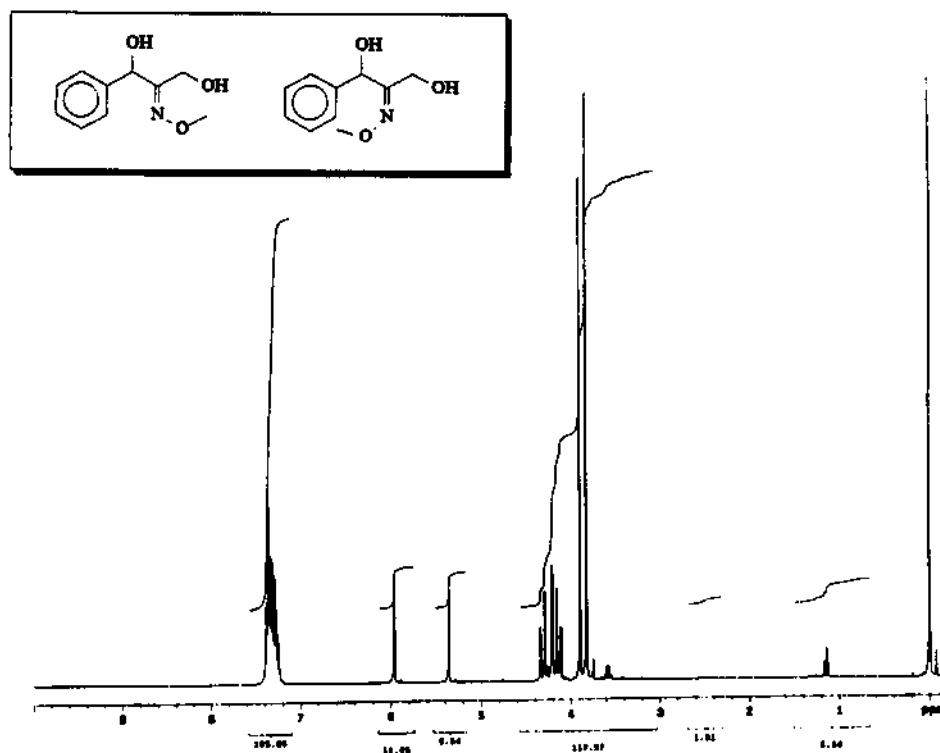
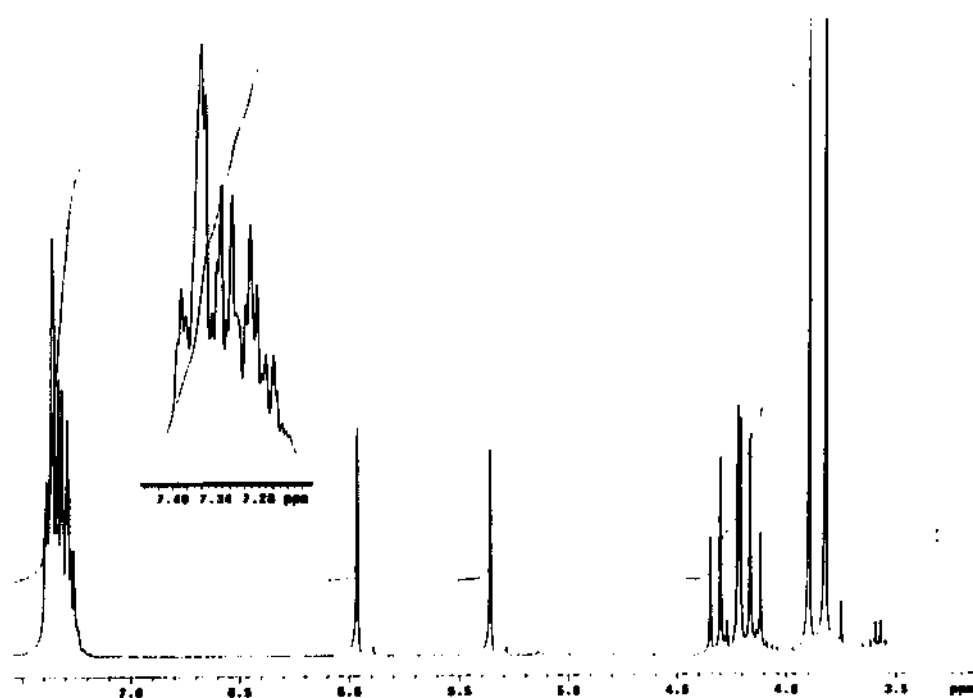
Espectro EM: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-1,3-propanodióis, 42



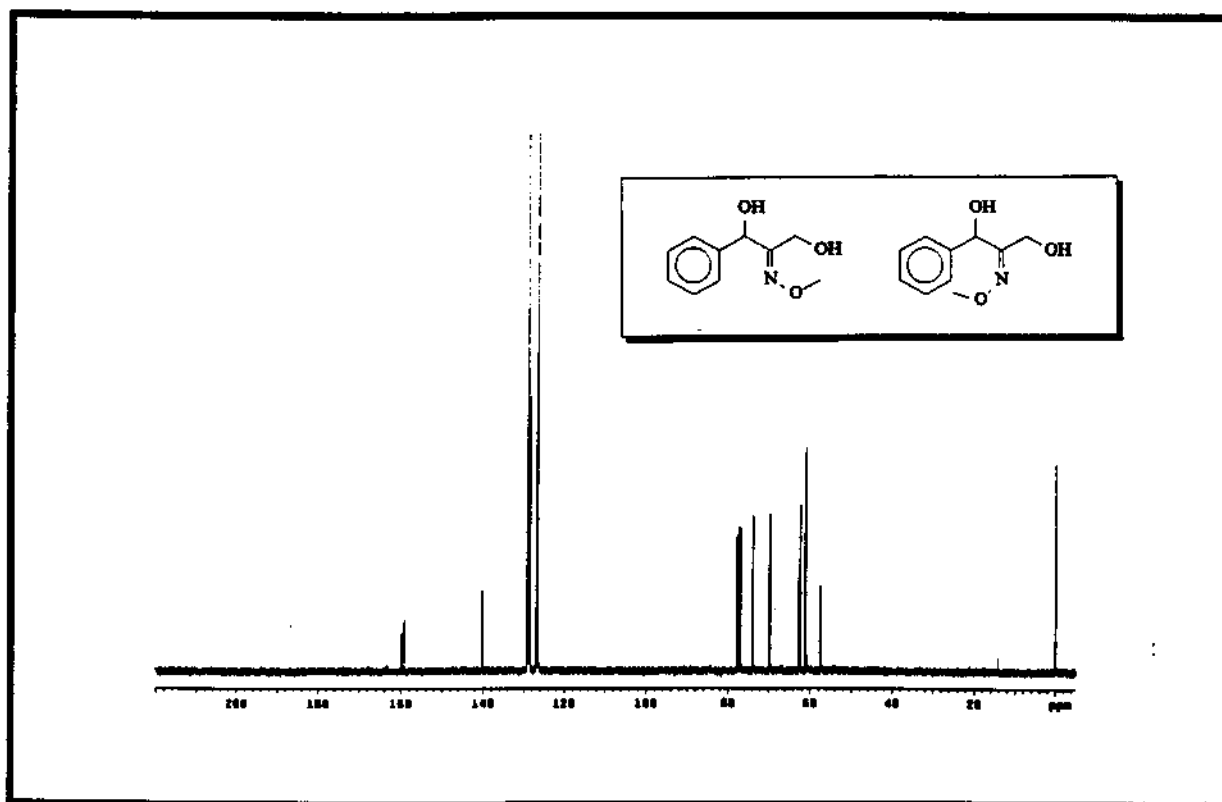
Espectro IV: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-1,3-propanodióis, 42



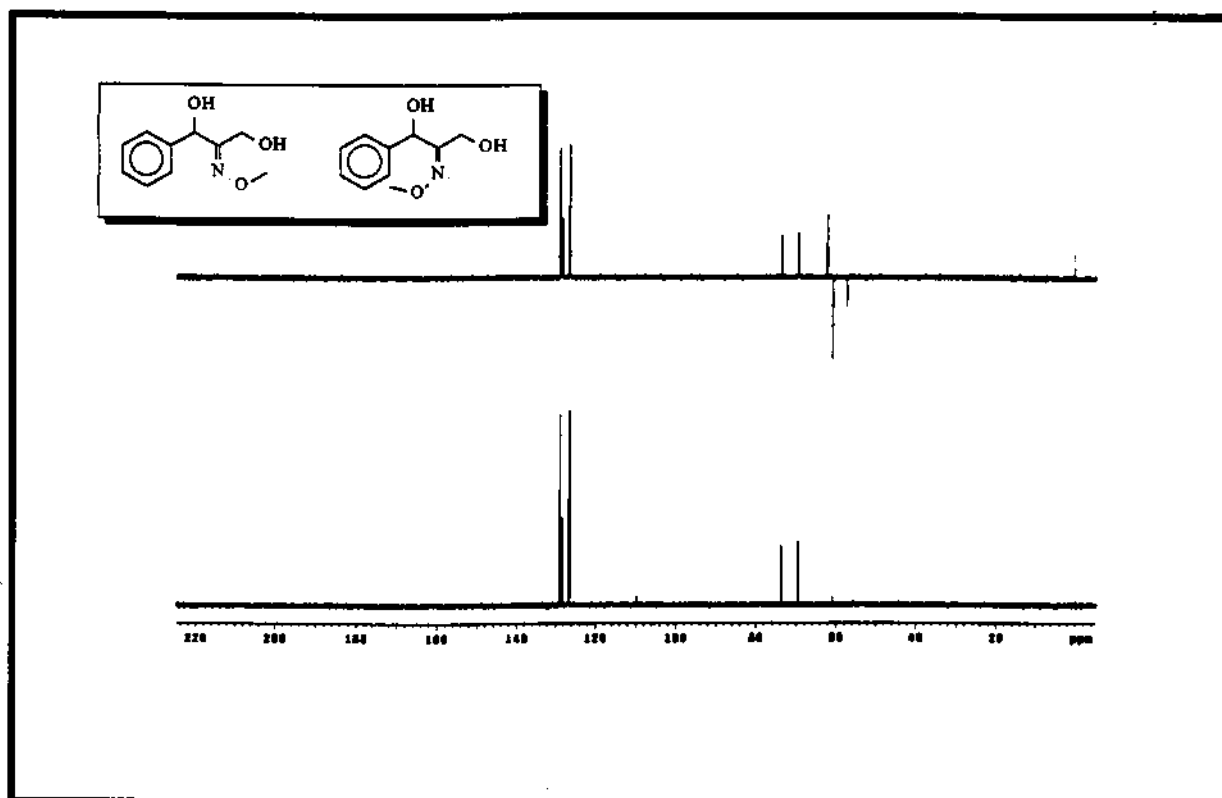
Espectro RMN- ^1H : mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-1,3-propanodióis, 42



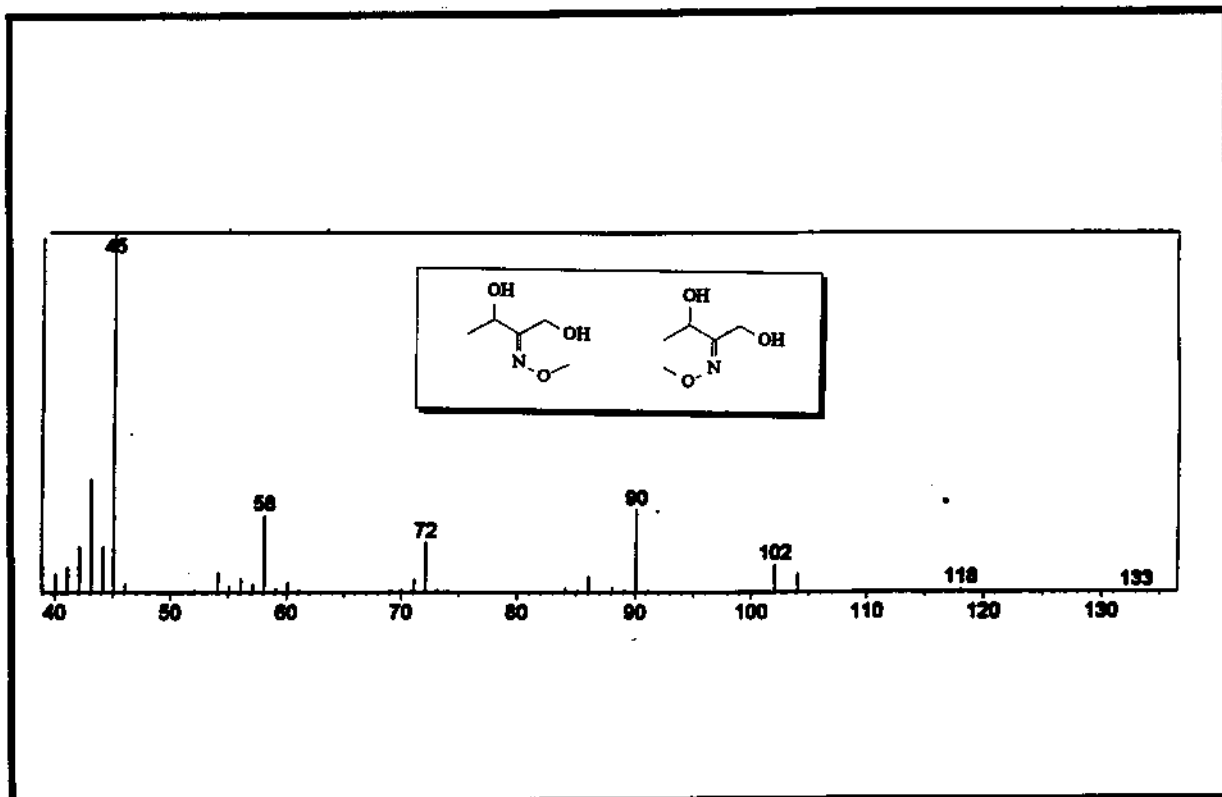
Espectro RMN- ^1H (D_2O): mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-1,3-propanodióis, 42



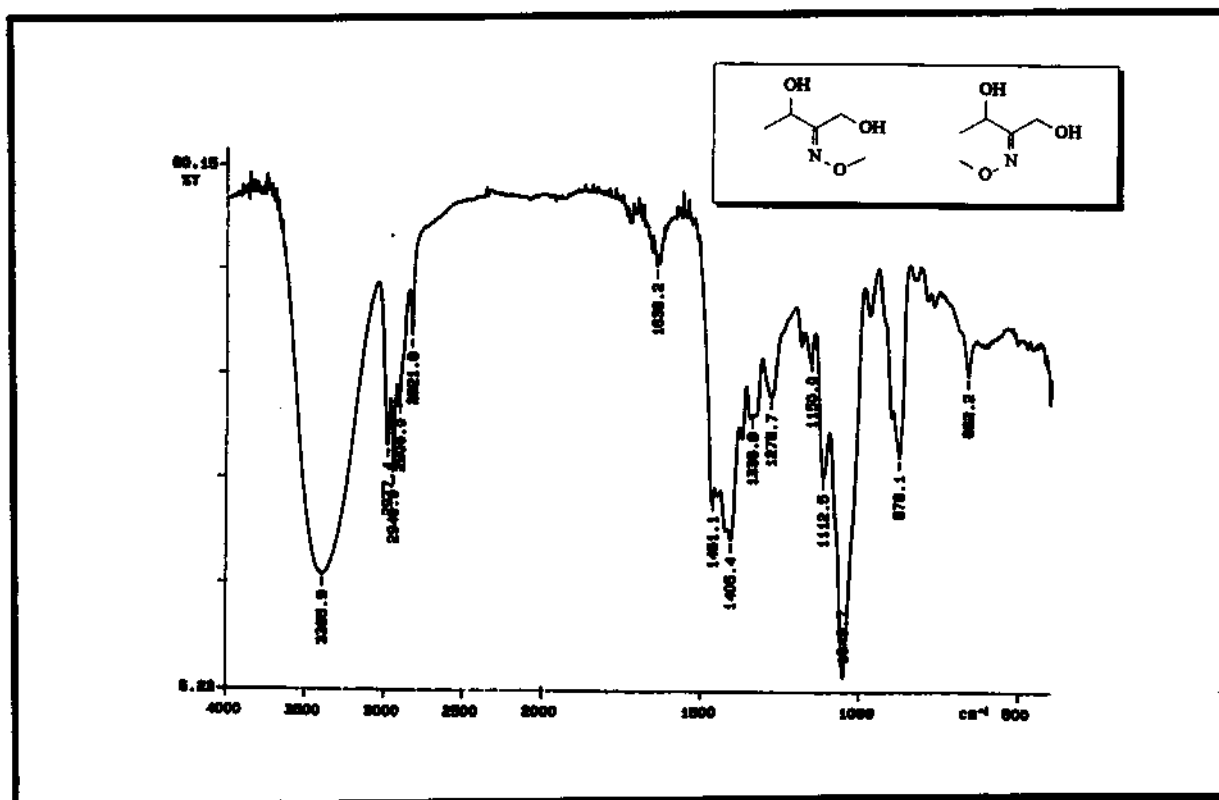
Espectro RMN- ^{13}C : mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-1,3-propanodióis, 42



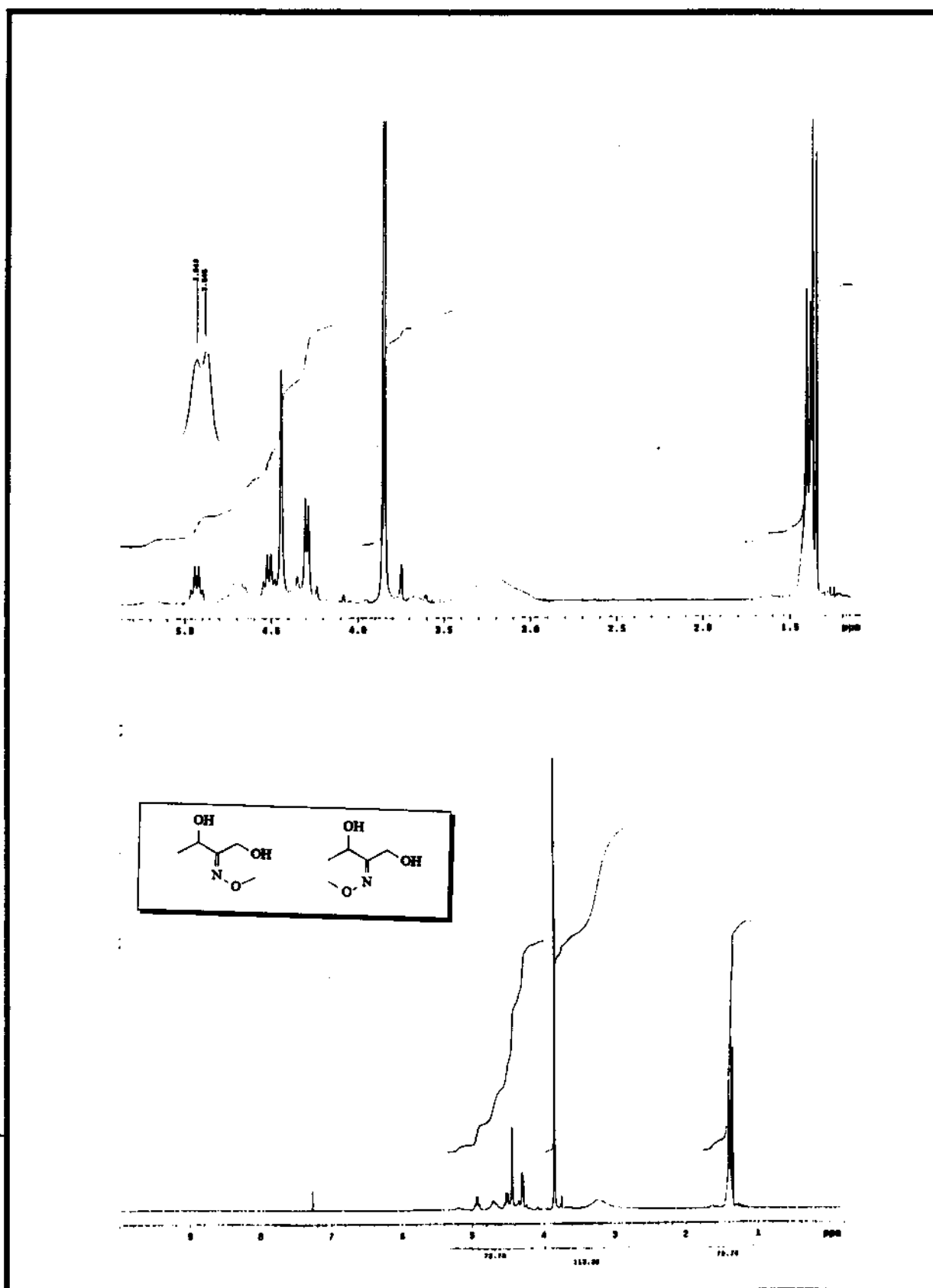
Espectro RMN- ^{13}C DEPT: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-3-fenil-1,3-propanodióis, 42



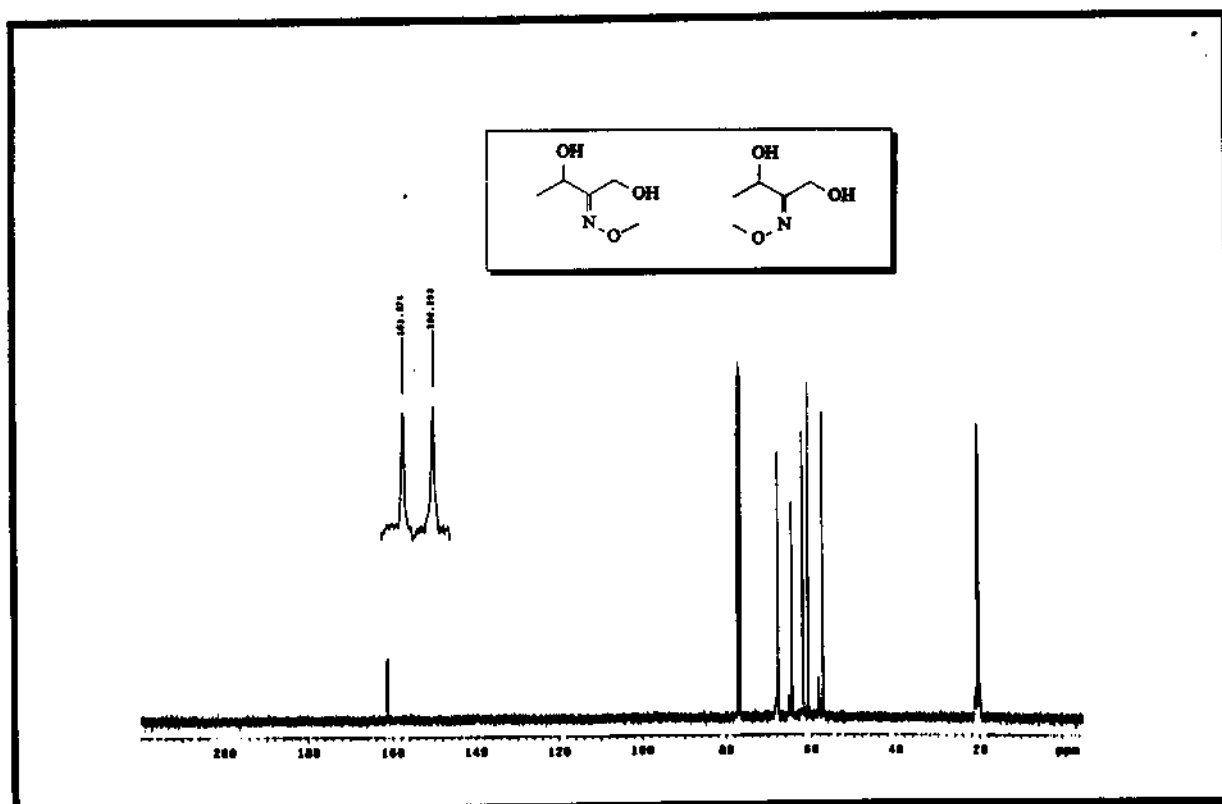
Espectro EM: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-butanodióis, 43



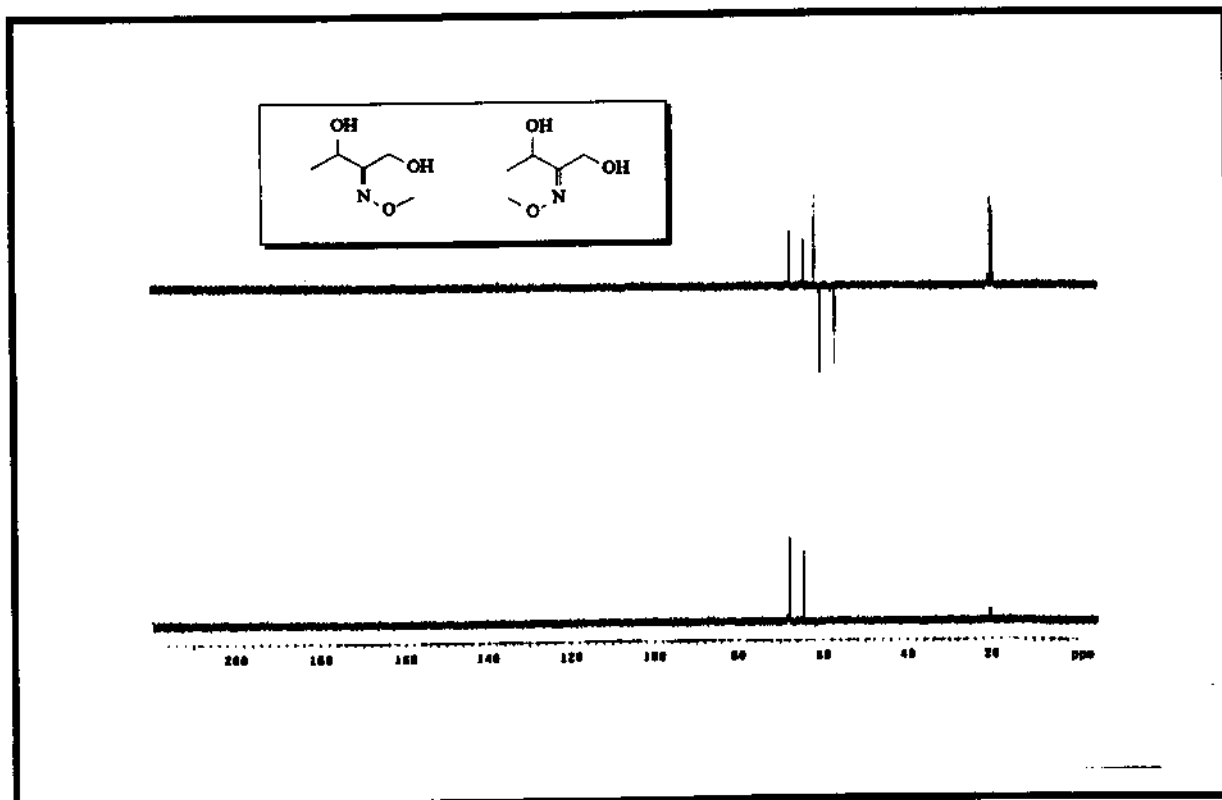
Espectro IV: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-butanodióis, 43



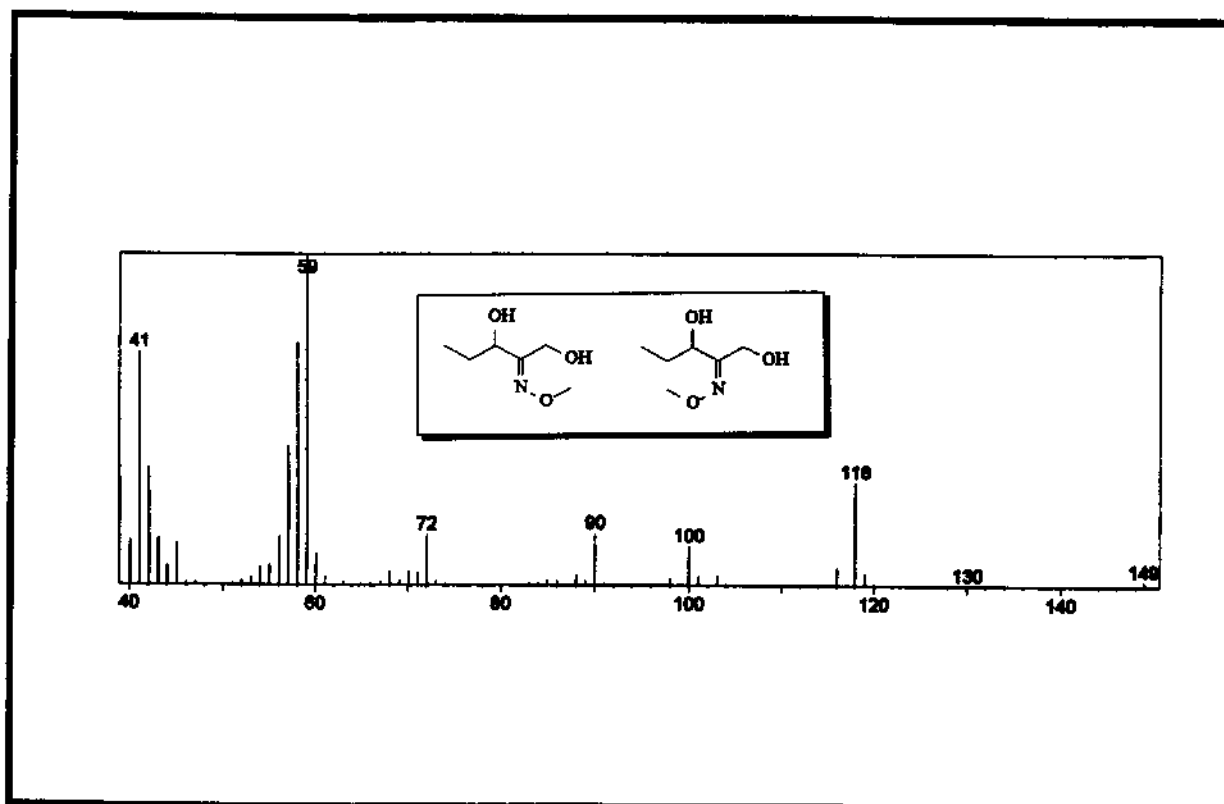
Espectro RMN- ^1H : mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-butanodióis, 43



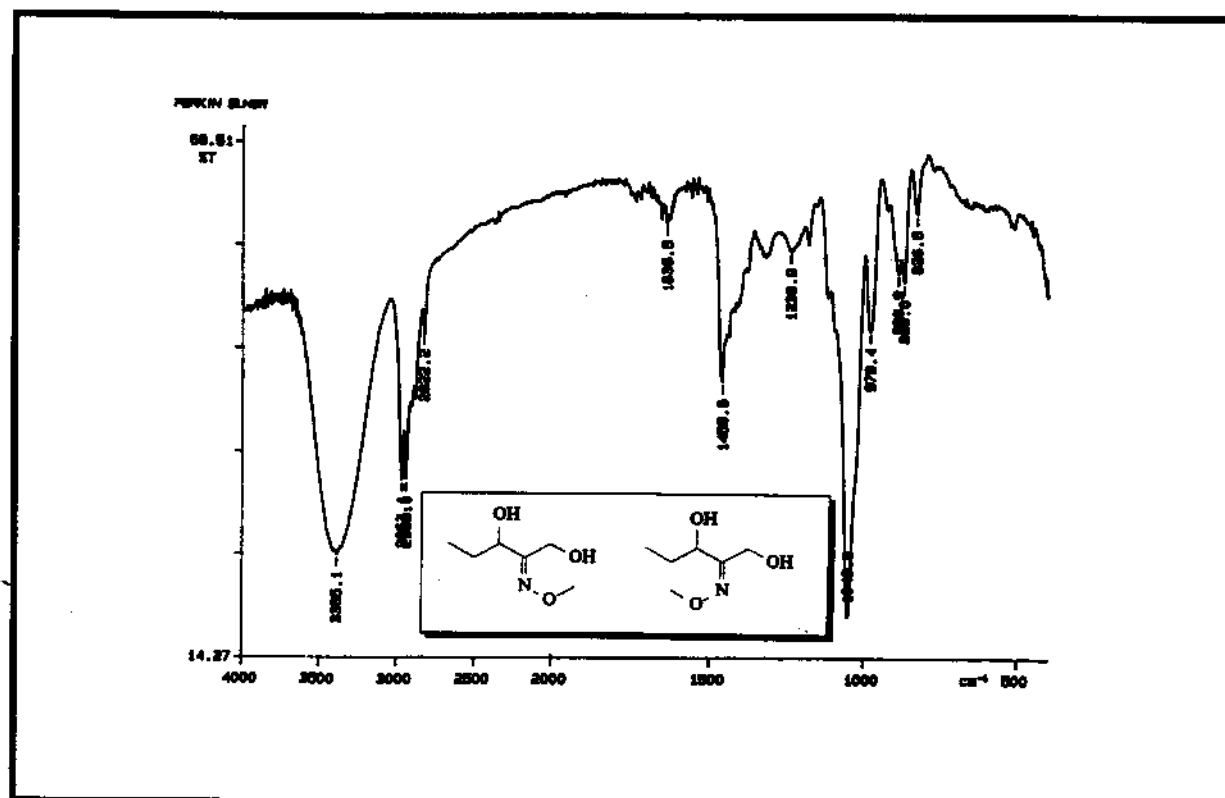
Espectro RMN-¹³ C: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-butanodióis, 43



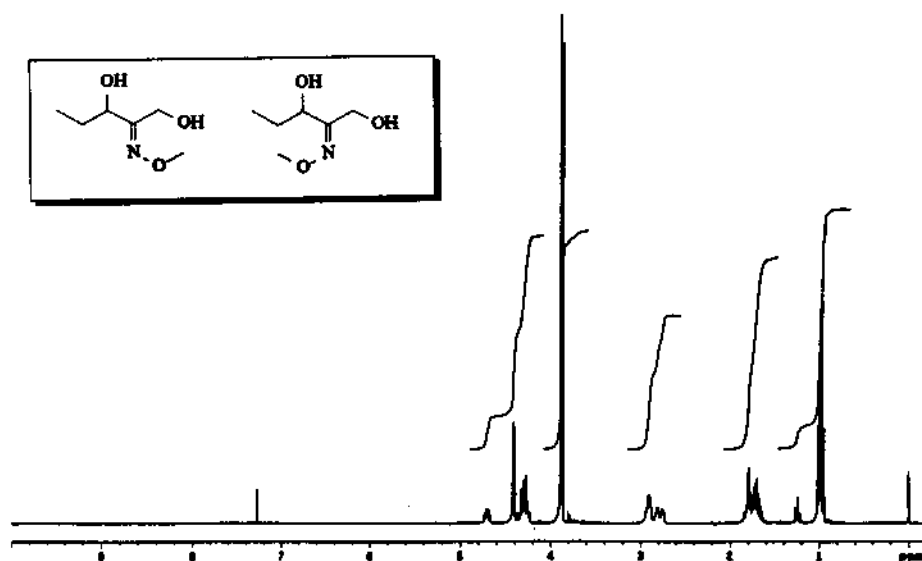
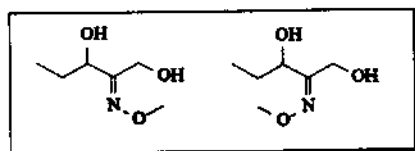
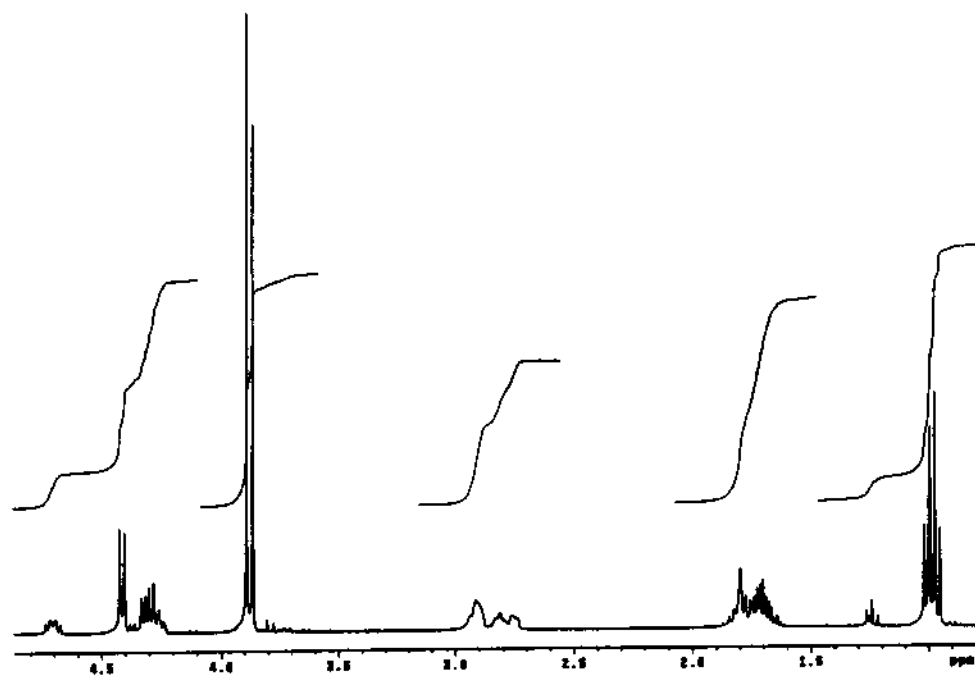
Espectro RMN-¹³ C DEPT: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-butanodióis, 43



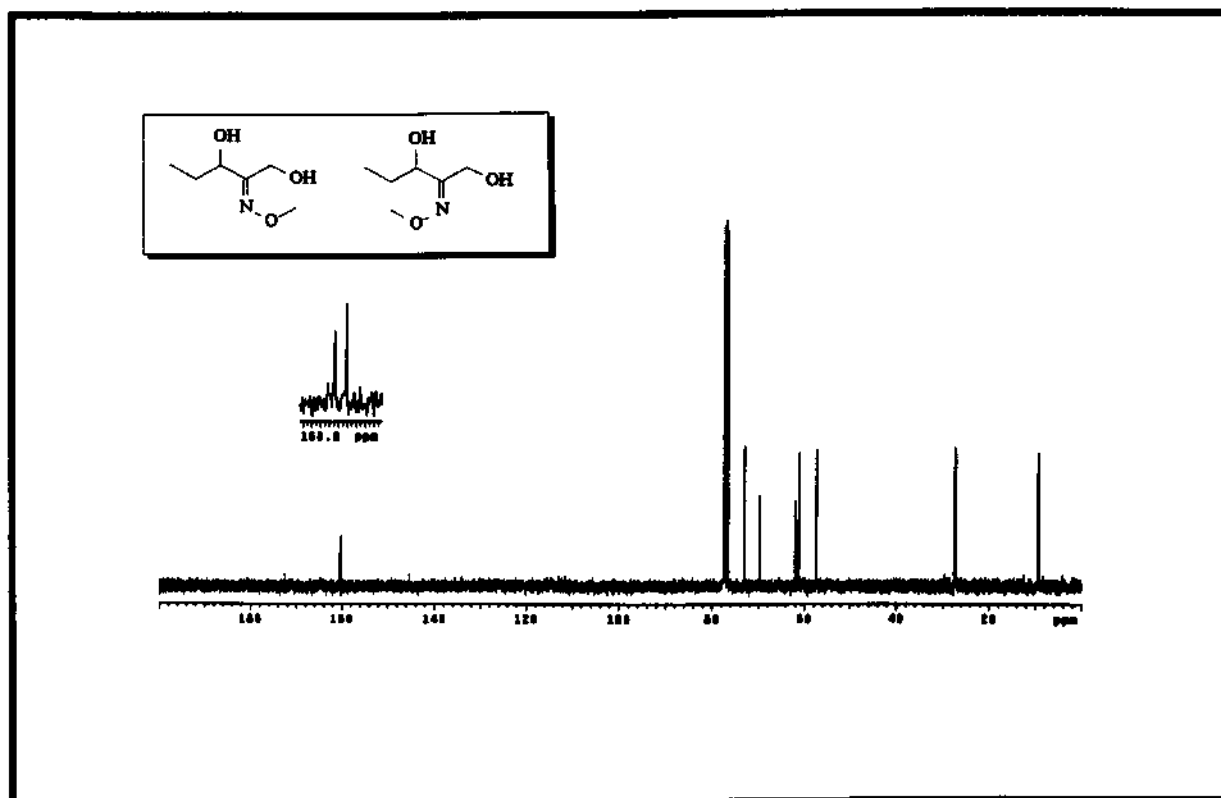
Espectro EM: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-pentanodíolis, 44



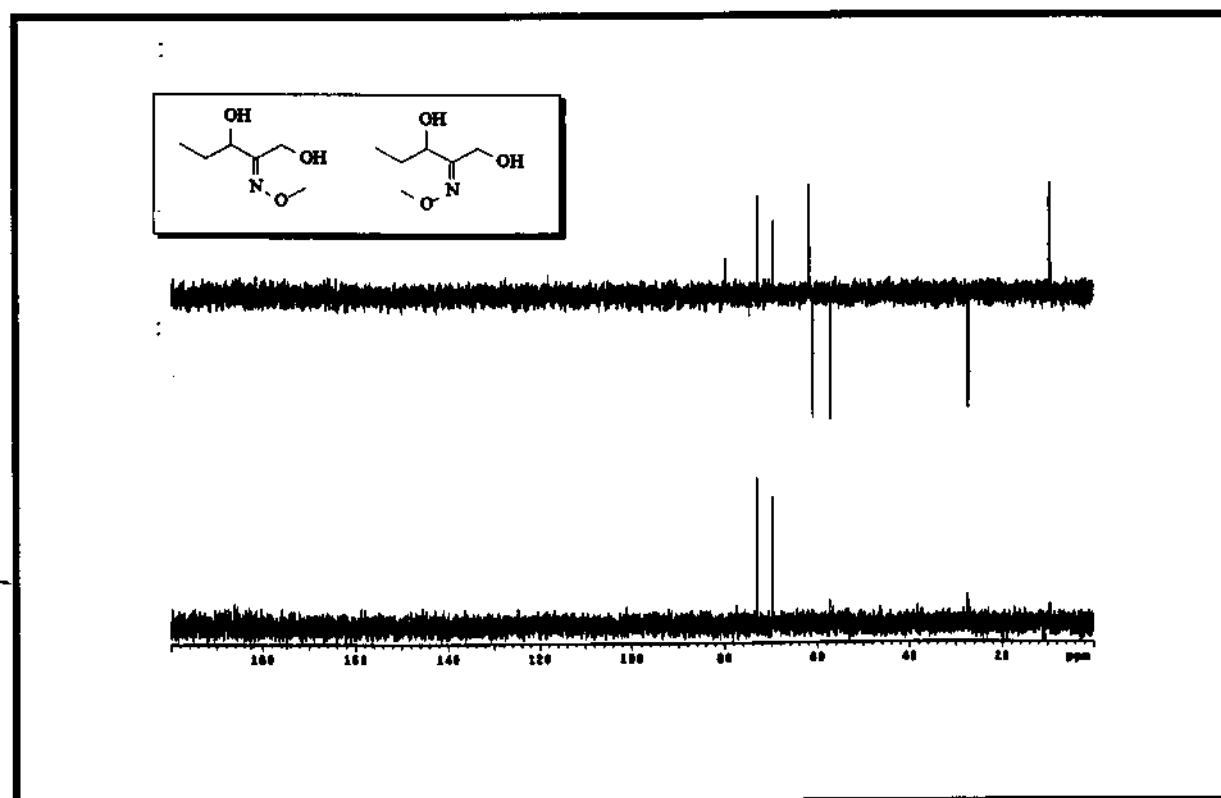
Espectro IV: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-pentanodíolis, 44



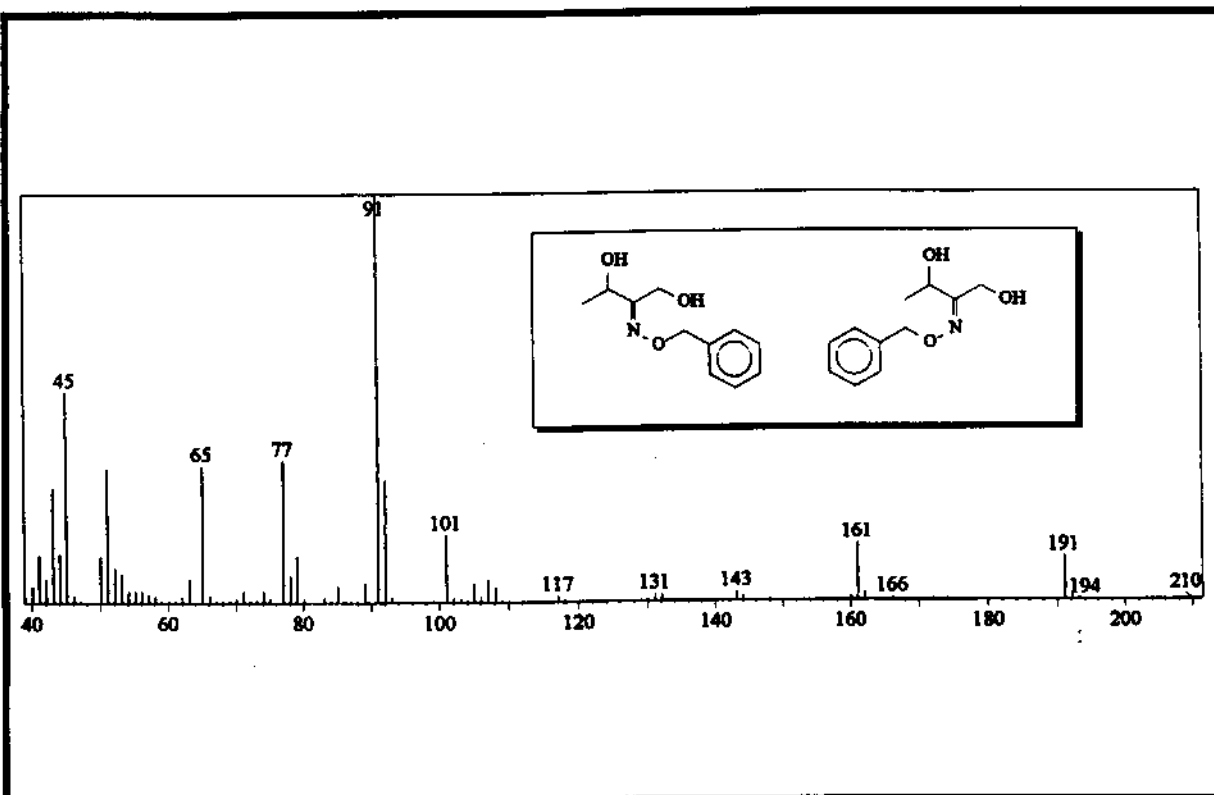
Espectro RMN-¹H: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-pentanodiolis, 44



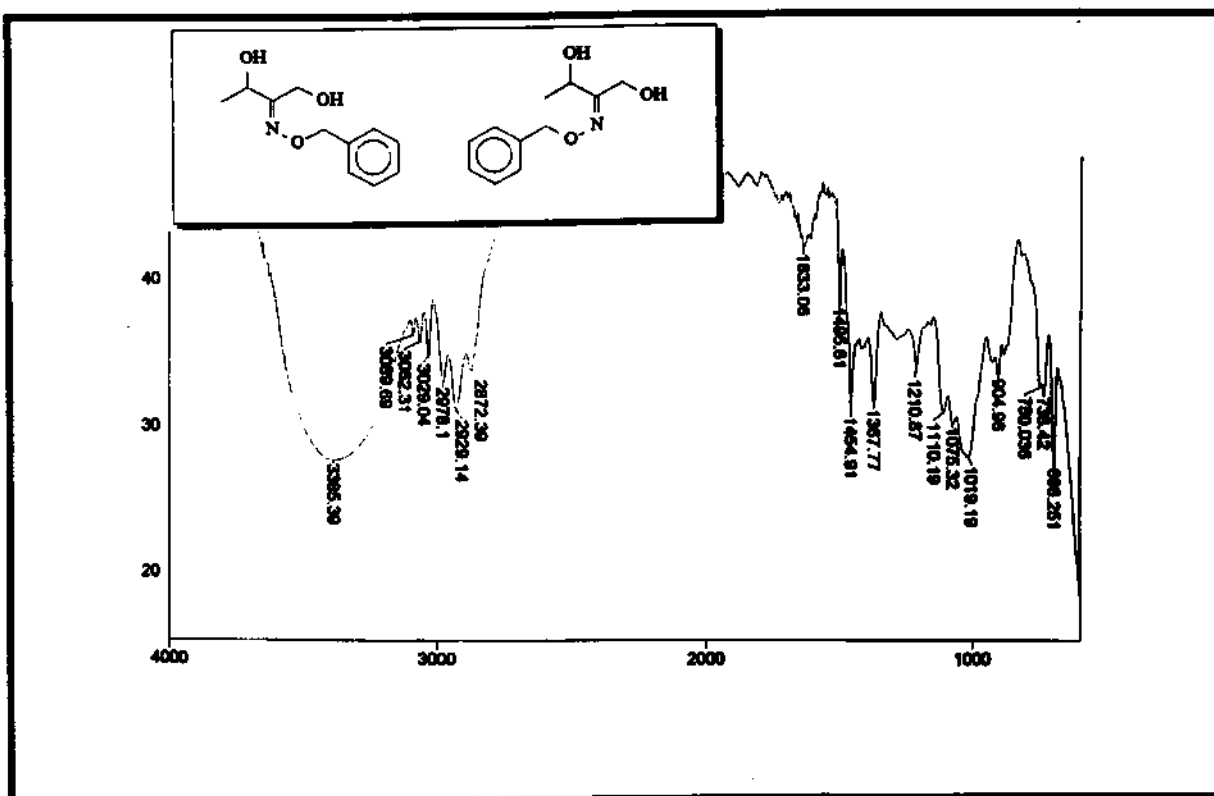
Espectro RMN- ^{13}C : mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-pentanodiolis, 44



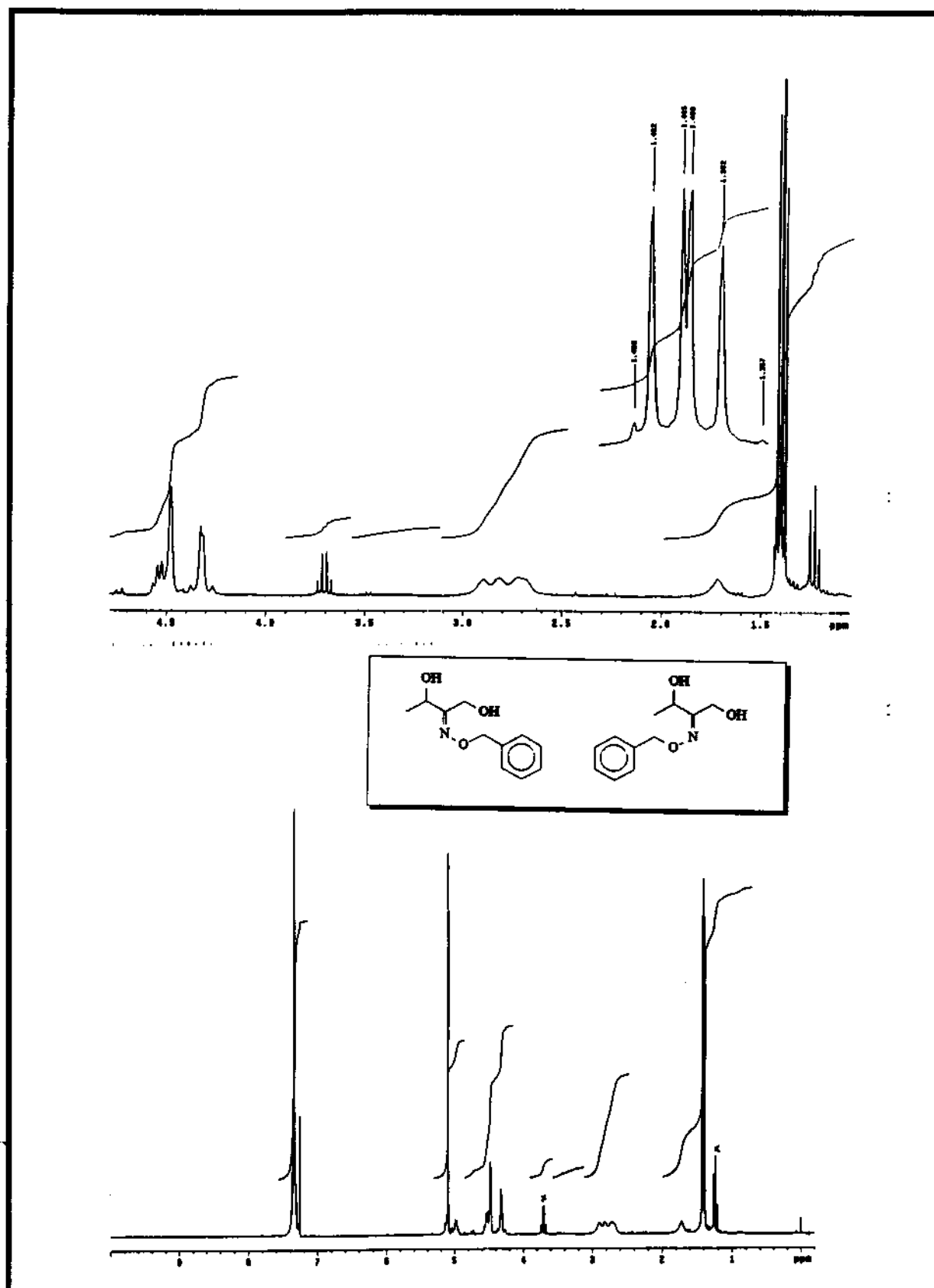
Espectro RMN- ^{13}C DEPT: mistura (E)- e (Z)-2-metoxilimino-1,3-pentanodiolis, 44



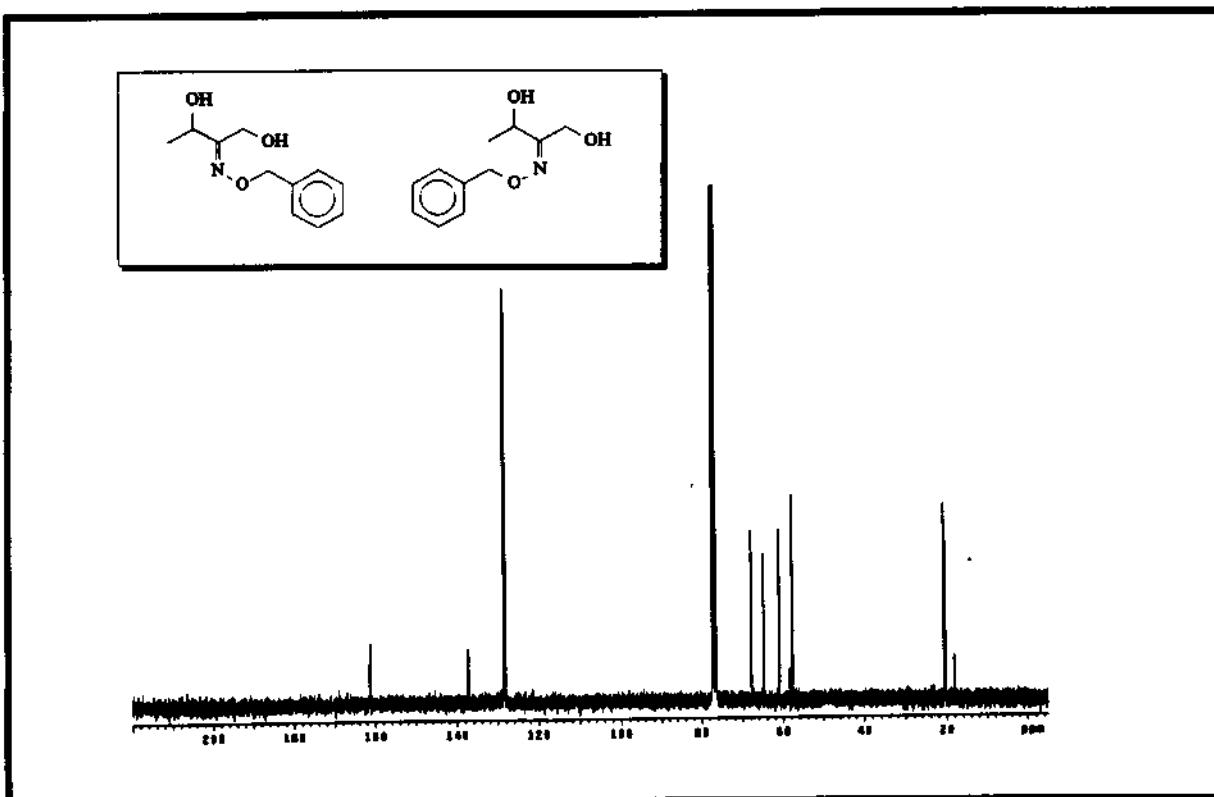
Espectro EM: mistura (E)- e (Z)-2-benzoxilimino-1,3-butanodióis, 45



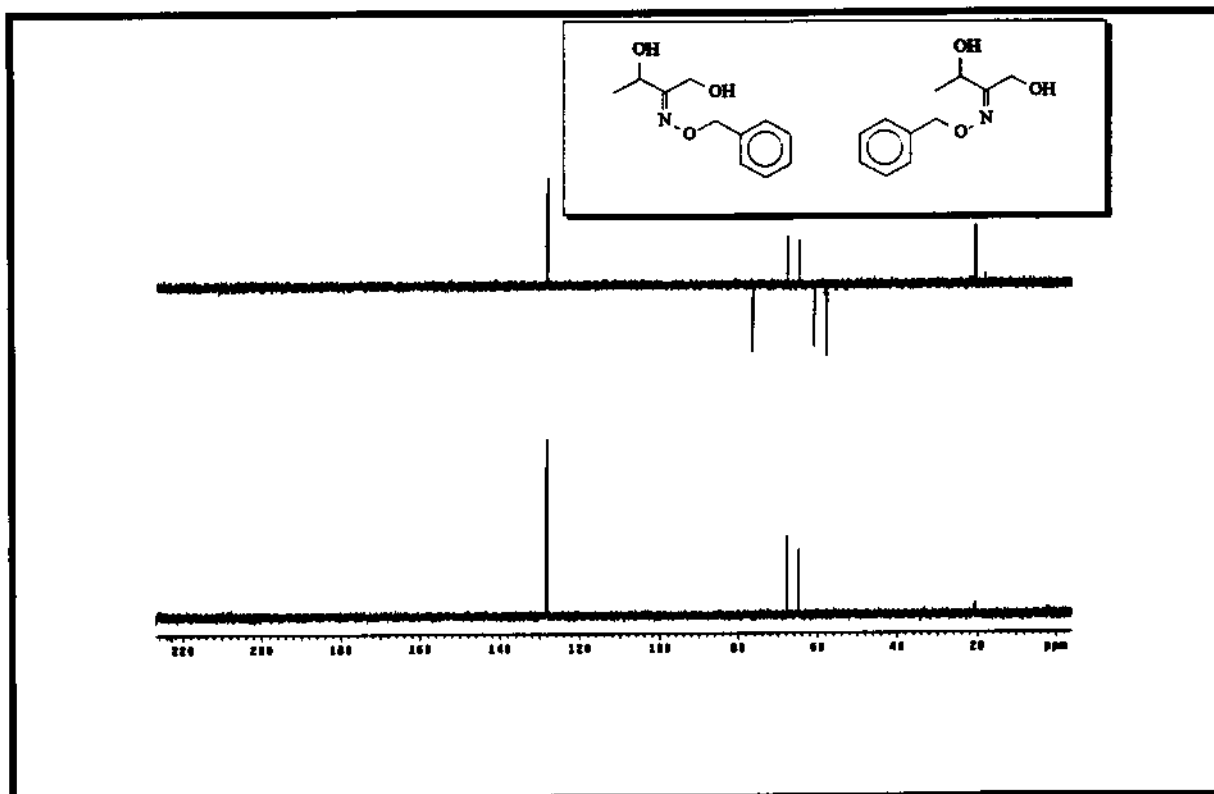
Espectro IV: mistura (E)- e (Z)-2-benzoxilimino-1,3-butanodióis, 45



Espectro RMN- ^1H : mistura (E)- e (Z)-2-benzoxilimino-1,3-butanodióis, 45



Espectro RMN- ^{13}C : mistura (E)- e (Z)-2-benzoxilimino-1,3-butanodióis, 45



Espectro RMN- ^{13}C DEPT: mistura (E)- e (Z)-2-benzoxilimino-1,3-butanodióis, 45