

Universidade Estadual de Campinas

Instituto de Química



**Estudo Sintético da Unidade N-Terminal do Resíduo
Aminoácido de Nikkomicinas**

Dissertação de Mestrado

Moacir de Mancilha

Orientador : Prof. Dr. José Augusto R. Rodrigues

Campinas, 1.999

**Aos meus pais,
José e Judith**

**e esposa,
Darci.**

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. José Augusto R. Rodrigues, por ter tornando possível a realização deste trabalho e também pela atenção, dedicação e amizade;

Ao Prof. Dr. Paulo José Samenho Moran, pelo apoio material importante para a continuidade do trabalho;

Aos amigos Paulo Sérgio, José Luis, Ivan, Amauri, Antônio Pedro e Ezequias pelas proveitosas discussões no cotidiano do laboratório;

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação, da Biblioteca, da Central Analítica, do Setor de Xerox e da Vidraria do Instituto de Química pelos serviços prestados;

À Darci Vitecosky de Mancilha, pelo auxílio na digitação e pelo incentivo;

Ao CNPq pelo auxílio financeiro, e a FAPESP pelo financiamento a pesquisa.

“Estudo Sintético da Unidade *N*-Terminal do Resíduo Aminoácido de Nikkomycinas.”

Autor: Moacir de Mancilha

Orientador: Prof. Dr. José Augusto R. Rodrigues

Resumo

Foram estudados diversos métodos visando a obtenção do resíduo amino ácido *N*-terminal de nikkomicinas, as quais possuem importantes propriedades farmacêuticas além de apresentar atividades como fungicida, inseticida e acaricida. As nikkomicinas pertencem a um grupo de antibióticos di- e tripeptídeos e sua estrutura geral apresenta: (i) uma parte nucleosídea e (ii) uma parte que consiste no resíduo amino ácido *N*-terminal que possui 3 centros estereogênicos consecutivos e compreende um elegante alvo sintético.

No primeiro passo obteve-se o ácido benzoilpropionico, através de acilação de Friedel-Crafts do benzeno, com 81% de rendimento. Com o ácido benzoilpropionico foram estudados 3 métodos para introdução do grupo α -metileno à cetona. Os melhores resultados foram encontrados com a utilização de morfolina e formaldeído em meio aquoso. Por esta metodologia foi obtido a acrilofenona correspondente com 91% de rendimento.

A acrilofenona foi submetida a reduções microbiológicas com *Saccharomyces cerevisiae*, fungos ou bactérias. Esperava-se a biorredução da carbonila e da ligação dupla carbono-carbono com o mesmo microorganismo, o que não foi encontrado devido a efeitos eletrônicos e estéricos. Nas condições empregadas obteve-se a biorredução apenas da ligação dupla carbono-carbono. O melhor resultado foi obtido com a utilização do *Saccharomyces cerevisiae* que forneceu a cetona saturada com 65% de rendimento, porém com baixa enantiosseletividade (12% ee). Alternativamente, estudou-se a redução estereosseletiva da carbonila com complexo de rutênio com ligante quirais, no entanto não se obteve resultados satisfatórios.

A partir da cetona saturada estudou-se a redução da carbonila com hidretos de boro em várias condições. O melhor resultado foi obtido com boroidreto de tetrabutilamônio produzindo os álcoois saturados *syn* e *anti* em uma proporção de 7:93 (*syn:anti*) com rendimento de 80%. Como a estereoquímica do resíduo aminoácido *N*-terminal de nikkomicinas é *anti*, a conclusão da síntese pretendida pode ser conduzida através de um processo de azidação eletrofílica, o qual está bem documentado na literatura.

" Synthetic Studies Towards the *N*-Terminal Unity of the Aminoacid Moiety of Nikkomycins. "

Author: Moacir de Mancilha

Supervisor: Prof. Dr. José Augusto R. Rodrigues

Instituto de Química - Universidade estadual de Campinas

C.P. 6154 - 13081 - 970 Campinas, SP - Brazil

Abstract

In this work we studied the synthesis of the *N*-terminal aminoacid residue of nikkomycins, which play important pharmaceutical properties and also present fungicidal, insecticidal and acaricidal activities.

The nikkomycins belongs to a group of di- and tri-peptidics antibiotics presenting in their structures a nucleosidic moiety and a *N*-terminal aminoacid moiety containing three consecutive stereogenic centers that is an attractive synthetic target.

In the first step, a Friedel-Crafts acylation of benzene was performed to produce benzoyl propionic acid in 81% of yield. With this acid in hand, we investigated three methods for introducing a methylene group to the α -position of the ketone function. The best results were achieved by using morpholine and formaldehyde in aqueous medium that furnished the corresponding acrylophenone in 91% of yield.

This acrylophenone was submitted to microbiological reductions with *Saccharomyces cerevisiae*, fungi and bacterias. We expected that the bioreduction of both the carbonyl group and the carbon-carbon double bond could be carried out by the same microorganism, however, this was not observed due to electronic and steric effects. Only the bioreduction of the carbon-carbon double bond to produce the corresponding saturated ketone was verifield in 65% of yield with the employed conditions. Besides the bioreductions, asymmetric hydrogenations of that acrylophenones assisted by ruthenium-BINAP complexes were investigated, but the results were not satisfactory.

The reductions of the carbonyl group of the saturated ketone was carried out using boron hydrides in diversés conditions. The best results was achieved by using tetrabutylammonium borohydride, wich furnished the respective lactone in 80% of yield and diastereoisomeric ratio of 93:7 (in favour to the *anti* isomer). To conclude the synthesis

of the aminoacid moiety, an electrophilic azidation methodology, that is widely reported in the literature, can be employed.

Curriculum Vitae

Moacir de Mancilha

1.999 Mestre em Química pelo IQ-Unicamp.

1.989 Bacharel em Química com Atribuições Tecnológicas pelo IQ-Unicamp

Publicações:

- 1) "Seleção e Avaliação de Bactérias Brasileiras Frente a Reduções de Alquenos e Cetonas". R. De Conti, O. C. Keutz, M. de Mancilha, N. Santiago, P. J. S. Moran, J. A. R. Rodrigues. Poços de Caldas, MG, Brasil, 22^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, livro de Resumos, 1999, vol. 2, QO-168.
- 2) "Bioreduction of Methylene Double Bonds with a Brazilian Strain of *Pseudomonas fluorescens* CCT4056." R. De Conti, M. de Mancilha, N. M. Liba, K. S. Damacena, P. J. S. Moran and J. A. R. Rodrigues. Belo Horizonte - MG, Brazil, 2nd IUPAC International Conference on Biodiversity, 1999, Programme and Abstracts, pg. 100, P7.
- 3) "Screening and Evaluation of Brazilian Bacterias in Reductions of Alkenes and Ketones". J. A. R. Rodrigues, R. De Conti, V. C. Fabi, M. de Mancilha, P. J. S. Moran. 37th IUPAC Congress e 27th GDCh Meeting, Berlin 14-19 de agosto de 1999, Abstracts Part 2: Posters, SYN 1-45, pg. 46.

Índice

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Ocorrência natural e função farmacológica de nikkomicinas	2
1.1.1. Mecanismo de atuação das nikkomicinas	3
1.2. Estudos sintéticos das nikkomicinas	4
1.3. α-Metilenação de carbonilas	10
1.4. Biocatálise	15
1.4.1. Desenvolvimento da biocatálise em química orgânica	15
1.4.2. Catalisadores enzimáticos e microbiológicos	16
1.4.3. Síntese microbiológica assimétrica	19
1.4.3.1. Considerações gerais	19
1.4.3.2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	20
1.4.3.3. Reduções microbiológicas assimétricas	21
1.4.3.4. Regra de Prelog	22
1.4.3.5. Imobilização de biocatalisadores	23
1.4.3.6. Redução catalisada por <i>Saccharomyces cerevisiae</i> em solventes orgânicos	24
1.4.4. Biorredução de cetonas α,β -insaturados e γ -cetoésteres	26
1.4.5. Atividades do grupo de pesquisa em biocatálise	29
1.5. Reações catalisadas por rutênio	30
1.5.1. Hidrogenações químio e regioseletivas	32
1.5.2. Hidrogenações enantioseletivas	34

1.6. Hidretos de boro	37
2. OBJETIVOS	41
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
3.1. Acilação de Friedel-Crafts	45
3.2. Metilação	48
3.3. Metilenação	51
3.4. Reações de redução biocatalisadas	58
3.4.1. Biorreduções com <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	58
3.4.2. Discussão de dados espectroscópicos da cetona saturada 85b	67
3.4.3. Discussão de dados espectroscópicos do álcool saturado 86b	69
3.4.4. Discussão de dados espectroscópicos do álcool 88	71
3.5. Hidrogenações catalisadas por complexo de rutênio	72
3.6. Reduções com hidretos de boro	76
3.7. Finalização da preparação do resíduo aminoácido <i>N</i>-terminal	80
4. CONCLUSÃO	81
5. PARTE EXPERIMENTAL	83
5.1. Considerações gerais	84

5.2. Síntese das aril cetonas	85
5.2.1. Procedimento geral	85
5.2.2. Preparação do ácido 3-(4-metoxibenzoil)-propiónico, 82a	86
5.2.3. Preparação do ácido 3-benzoil-propiónico, 82b	87
5.2.4. Preparação da butirofenona, 82c	87
5.3. Síntese dos γ-cetoésteres	87
5.3.1. Procedimento geral	87
5.3.2. Preparação do 3-(4-metoxibenzoil)-propionato de metila, 83a	88
5.3.3. Preparação do 3-benzoil-propionato de metila, 83b	88
5.4. Síntese dos derivados de acrilofenona	88
5.4.1. Procedimento geral	88
5.4.2. Preparação do 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenato de metila, 84a	89
5.4.3. Preparação do 3-benzoil-3-butenato de metila, 84b	89
5.4.4. Preparação do 2-benzoil-1-buteno, 84c	90
5.4.5. Preparação do 2-benzoil-propeno, 84d	90
5.4.6. Preparação do ácido 3-benzoil-3-butenóico, 84e	91
5.4.6.1.. Através da aril cetona 82b	91
5.4.6.2.. Através da acrilofenona, 84b	91
5.4.7. Tentativa de síntese do 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenato de metila 84a via HMTA/Ac ₂ O	91
5.4.8. Tentativa de síntese do 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenato de metila 84a via TAMA/formaldeído	92
5.4.8.1.. Síntese do trifluoroacetato de <i>N</i> -metilanilínio (TAMA)	92
5.5. Sínteses assimétricas biocatalisadas	93
5.5.1. Imobilização de fermento de pão em montmorilonita K10 (FPI)	93
5.5.2. Procedimento geral para biotransformação com FPI em solução aquosa, Método A	93
5.5.3. Procedimento geral para biotransformação com FPI em meio orgânico,	

Método B	93
5.5.4. Reativação de fungos e bactérias liofilizadas e preparação de tubos Agar-Slant	94
5.5.5. Procedimento geral para biotransformação com fungos e bactérias	94
5.5.6. Preparação do (-)-4-(4-metoxifenil)-3-metil-4-oxo-butonoato de Metila, 85a	95
5.5.6.1.. Através de FPI em solvente aquoso	95
5.5.6.2. Através de FPI em solvente orgânico	95
5.5.6.3. Através do fungo <i>Rhizopus arrhizus</i> RA1547	95
5.5.6.4. Através da bactéria <i>Pseudomonas fluorescens</i> CCT4056	96
5.5.7. Preparação do (-)-4-fenil-3-metil-4-oxo-butonoato de metila, 85b	96
5.5.8. Preparação do (-)-1-fenil-2-metil-1-butonoato, 85c	96
5.5.9. Preparação do 1-fenil-2-metil-1-butanol, 86c	97
5.5.10. Preparação da 1-fenil-2-metil-1-propanona, 85d	97
5.5.10.1. Através de FPI em solvente aquoso	97
5.5.10.2. Através de FPI em solvente orgânico	97
5.5.10.3. Através do fungo <i>Rhizopus arrhizus</i> RA1547	97
5.5.11. Preparação do (-)-1-fenil-2-metil-1-propanol, 86d	98
5.5.12. Tentativa de biorredução da γ -cetoéster 83a	98
5.5.12.1..Através do fungo <i>Rhizopus arrhizus</i> RA1547	98
5.5.12.2. Através da bactéria <i>Pseudomona fluorescens</i> CCT4056	98
5.5.13. Preparação do 1-(4-metoxifenil)-1-etanol	98
5.5.14. Tentativa de biorredução do 3-(4-metoxibenzoil)-propionato de metila, 83a	99
5.5.15. Preparação da 5-feniltetraidro-2-furanona, 87b	99
5.5.16. Preparação do 2-fenil-1-etanol, 88	99
5.5.17. Tentativa de biorredução do ácido 3-benzoil-3-butenóico, 84e	99
5.6. Hidrogenações catalisadas por complexo de rutênio	100
5.6.1. Procedimento geral	100
5.6.1.1. Desgaseificação de metanol	100

5.6.2. Síntese da 5-(4-metoxifenil)tetraidro-2-furanona, 87a	100
5.6.3. Síntese da 5-feniltetraidro-2-furanona, 87b	101
5.6.3.1. Através do S-BINAP-Ru	101
5.6.3.2. Através do R-BINAP-Ru	101
5.6.4. Síntese do 4-fenil-3-metil-4-oxo-butanoato de metila, 85b	101
5.6.5. Síntese do ácido 4-fenil-3-metil-4-oxo-butanoico, 85e	101
5.7. Reduções com hidretos de boro	102
5.7.1. Procedimento geral	102
5.7.2. Preparação da 5-feniltetraidro-4-metil-2-furanona, 89	102
5.7.2.1. Através de boroidreto de sódio	102
5.7.2.2. Através de boroidreto de tetrabutilamônio	103
5.7.3. Tentativa de redução da acrilofenona, 84b	103
5.8. Sínteses das cetonas e dos álcoois racêmicos	103
5.8.1. Preparação das cetonas saturadas racêmicas, 85a, b, c, d e e	103
	vi
5.8.1.1. Procedimento geral	103
5.8.1.2. Preparação do (±)-4-(4-metoxifenil)-3-metil-4-oxo-butonoato de metila, 85a	104
5.8.1.3. Preparação do (±)-4-fenil-3-metil-4-oxo-butonoato de metila, 85b	104
5.8.1.4. Preparação do (±)-2-metil-1-butonoato, 85c	104
5.8.1.5. Preparação do (±) ácido 4-fenil-3-metil-4-oxo-butanoico, 85e	104
5.8.2 Preparação do (±)-1-fenil-2-metil-1-propanol, 86d	105
5.9. Determinação da pureza enantiomérica	105

Abreviações

Ac – acetila

Ac₂O – anidrido acético

atm – atmosfera de pressão

ADH – álcool desidrogenase

AE – análise elementar

aq. – aquoso

Ar – aromático

Bn – benzila

catalis. – catalisador

CCD – cromatografia em camada delgada

CG – cromatografia gasosa

d – dubleto

dd- dubleto de dubletes

DEPT – Distortionless Enhancement by polarization transfer (técnica espectroscópica para obtenção de espectros separados dos grupos CH, CH₂ e CH₃)

DMSO – dimetil sulfóxido

e.e. – excesso enantiomérico

EM – espectrometria de massas

eq – equivalente

Et – etila

eV – elétrons – volt

FDH – formiato desidrogenase

FP – fermento de pão

FPI – fermento de pão imobilizado

IE – impacto de elétrons

int. rel. – intensidade relativa

HLADH – horse liver (figado de eqüinos) álcool desidrogenase

HMTA - hexametilenotetramina

IV – infravermelho

J – constante de acoplamento

m – multiplete

Mult. - multiplicidade

Me – metila

MHz – megahertz

m/z – coeficiente entre massa e carga

NADH – nicotinamida adenina nucleotídeo

NADPH – nicotinamida adenina nucleotídeo fosfatado

p – página

PADH – *Pseudomonas sp.* Álcool desidrogenase

pf – ponto de fusão

pH – potencial hidrogeniônico

Ph – fenila

ppm – partes por milhão

q – quarteto

Recup. – recuperado

Rend. – rendimento

RMN¹H – ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RMN¹³C – ressonância magnética nuclear de carbono – 13

s – singleto

t – tripleto

ta – temperatura ambiente

TBADH – *Thermoanaerobium brockii* álcool desidrogenase

THF – tetraidrofurano

TMS – tetrametilsilano

YADH – yeast (levedura) álcool desidrogenase

δ - deslocamento químico

ν – frequência de estiramento

1 - INTRODUÇÃO

1.1 Ocorrência natural e função farmacológica de nikkomicinas

As nikkomicinas¹ e neopolioxinas² são um grupo de antibióticos nucleosídeos di- e tripeptídeos produzidos pelas bactérias *Streptomyces tendae* e *S. cacaoi ssp. asoensis*.

Estes compostos são potentes inibidores da *Quitina sintetase*,³ que atua na biossíntese da quitina e exibem atividades fungicidas, inseticidas e acaricidas.⁴ A inibição seletiva contra certos fungos patogênicos como os *Botrytis cinerea*, *Pyricularia oryzae* e *Candida albicans*, pela prevenção do crescimento da parede celular, são particularmente notáveis.²

A efetividade de ambos, nikkomicinas e neopolioxinas contra o patógeno comum, farmacologicamente importante, *C. albicans* é significativa, especialmente tendo em vista que este organismo oportunista leva a candidíases sistêmicas, o principal problema das vítimas de AIDS,⁵ além de interesse para pacientes recebendo terapia para o câncer e pacientes transplantados. O fungo está frequentemente presente nos rins, e pode levar os pacientes à morte resultante de falha renal. As infecções fúngicas tem aumentado dramaticamente nas últimas duas décadas. Um grande número de drogas antifúngicas tem sido desenvolvido. Porém, muitas destas drogas possuem significantes limitações e efeitos colaterais. Assim, medicações antifúngicas mais eficientes e seguras são urgentemente necessárias. As nikkomicinas seguem esta tendência, já que apresentam baixa toxicidade em plantas e animais.⁶

Zähner divulgou as estruturas de nikkomicinas X e Z, as quais foram isoladas de *Streptomyces tendae* e, König divulgou a configuração absoluta do resíduo amino ácido *N*-terminal de nikkomicinas com base em análises de raio X e curva CD.⁷ A estrutura geral

¹ (a) Dahn, U.; Hagenmaier, H.; Höhne, H.; König, W. A.; Wolf, G.; Zähner, H. *Arch. Microbiol.* 1976, 107, 143. (b) Delzer, J.; Fiedler, H. P.; Müller, H.; Zähner, H.; Rathmann, R.; Ernst, K.; König, W. A. *J. Antibiot.* 1984, 37, 80.

² Kobinata, K.; Uramoto, M.; Nishii, M.; Kusakabe, H.; Nakamura, G.; Isono, K. *Agric. Biol. Chem.* 1980, 44, 1709.

³ McCarthy, P.J.; Troke, P.F.; Gull, K. J. *Gen. Microbil.* 1985, 13, 775.

⁴ Fiedler, H.-P.; Kurth, R.; Langhärig, J.; Delzeer, J.; Zähner, H. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 1982, 32, 271.

⁵ Walsh, T. J. *Emerging Targets in Antibacterial and Antifungal Chemotherapy* Sutcliffe, J. A.; Georgopapadakou, N. H.; Eds.; Chapman and Hall: New York, 1992; pp. 349.

⁶ Uramoto, M.; Kobinata, K.; Isono, K.; Higashijima, T.; Miyazawa, T.; Jonkins, E. E.; McCloskey, J. A. *Tetrahedron* 1982, 38, 1599.

⁷ a) König, W. A.; Hagenmaier, H.; Keckeisen, A.; Zähner, H. *Liebigs Ann. Chem.* 1979, 1494. b) König, W. A.; Pfaff, K. P.; Barsch, H. H.; Schmalle, H.; Hagenmaier, H.; *Liebigs Ann. Chem.* 1980, 1728.

das nikkomicinas consiste de uma porção amino ácido *N*-terminal e uma porção nucleosídea. Devido a suas importantes propriedades farmacêuticas, muitos esforços tem sido dedicados a síntese total das nikkomicinas B, 1 e B_x, 2 (Figura 1.1), principalmente pelo acoplamento do nucleosídeo *C*-terminal com o resíduo amino ácido *N*-terminal, que

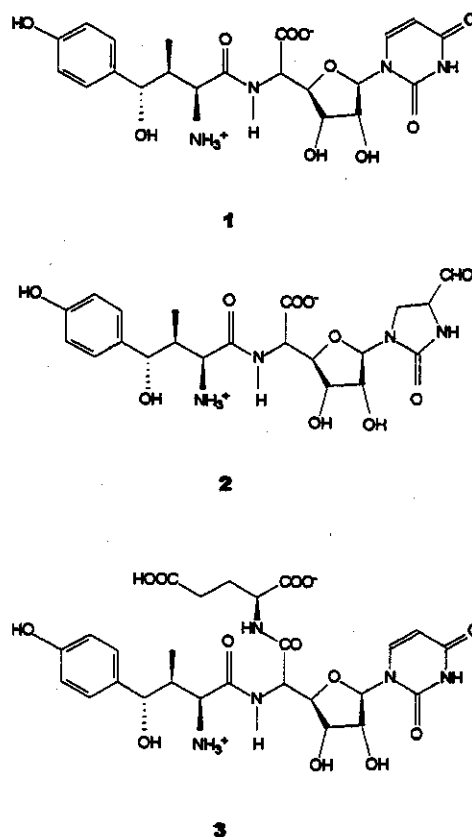


Figura 1.1 Estruturas das nikkomicinas B (1), B_x (2) e J (3).

apresenta 3 centros estereogênicos consecutivos, um elegante elemento sintético e comum nas variadas estruturas das nikkomicinas.

1.1.1. *Mecanismo de atuação das nikkomicinas*

O tegumento é um dos sistemas primários de um animal. De origem ectodérmica, o tegumento pode ser descrito como um elipsóide oco e contínuo. A estrutura generalizada do

tegumento de um inseto está representada na Figura 1.2. A cutícula formada pelo material secretado pelas células epidérmicas, é depositado na superfície externa que aí se solidifica formando o exo esqueleto e que se divide em epicutícula e procutícula.⁸

A procutícula ou cutícula quitinosa, está colocada diretamente abaixo da camada epicuticular. Ela é composta da exocutícula e da endocutícula, tendo ambas a glucosamino quitina, que está sempre associada com proteínas e outros materiais complexos. A quitina e as proteínas estão tão intimamente ligadas, que a quitina isolada não existe no tegumento dos insetos, mas apenas combinadas no complexo protéico. As duas camadas procuticulares são quimicamente semelhantes diferindo nas quantidades relativas do complexo quitina-proteína. É a presença deste complexo no seu exoesqueleto que confere, a este, a dureza e rigidez características dos insetos.⁸

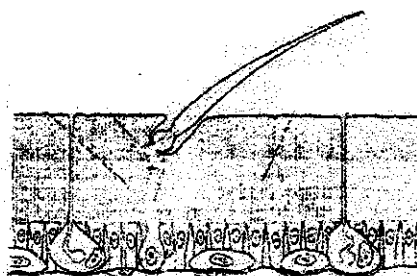


Figura 1.2. Estrutura geral do tegumento de um inseto

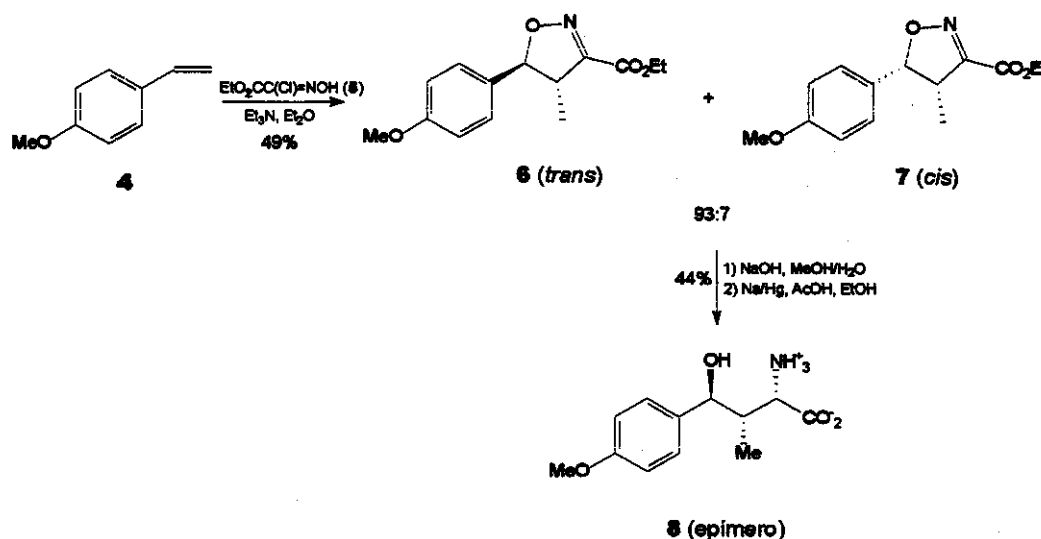
As nikkomicinas inibem a biossíntese da quitina e alteram a morfologia do sistema primário e, sem a presença de quitina no seu exoesqueleto, os organismos perdem suas resistências e não sobrevivem.

1.2 Estudos sintéticos das nikkomicinas

Recentemente, as nikkomicinas têm sido objeto de intensivos estudos. Primeiramente pelos grupos de König e Isono, que focalizaram seu isolamento, determinação estrutural e suas atividades farmacêuticas.⁹

⁸ Gallo, D.; Nakano, O. *Manual de entomologia agrícola*, Ed. Agron. CERES: São Paulo, 1988, p. 102-105.

O primeiro estudo sintético do resíduo aminoácido *N*-Terminal de nikkomicinas B e B_x foi publicado por König em 1980.¹⁰ A síntese demonstrada foi conduzida de forma não estereosseletiva, processo que envolveu uma reação de cicloadição de óxido de nitrila como mostrado no Esquema 1.1. A reação entre o alqueno 4 e o derivado óxido nitrila do



Esquema 1.1. Preparação do resíduo amino ácido racêmico

cloreto de hidroximoila 5 produziu as isoxazolinas 6 e 7. Através de saponificação do éster e redução da isoxazolina obteve-se o aminoácido 8 como uma mistura de dois epímeros em C-2. Posteriormente, estes métodos foram aplicados para a síntese parcial da nikkomicina B, 1 B_x, 2 e vários análogos.¹¹

Uma revisão dos estudos sintéticos foi divulgada por Barret e Lebold, quando publicaram a síntese total da nikkomicina B.¹² No método de preparação enantio e diastereosseletivo aplicado para obtenção do resíduo aminoácido *N*-terminal acíclico, utilizou-se a adição de uma espécie crotilmetal ao aldeído 9 como mostrado no Esquema

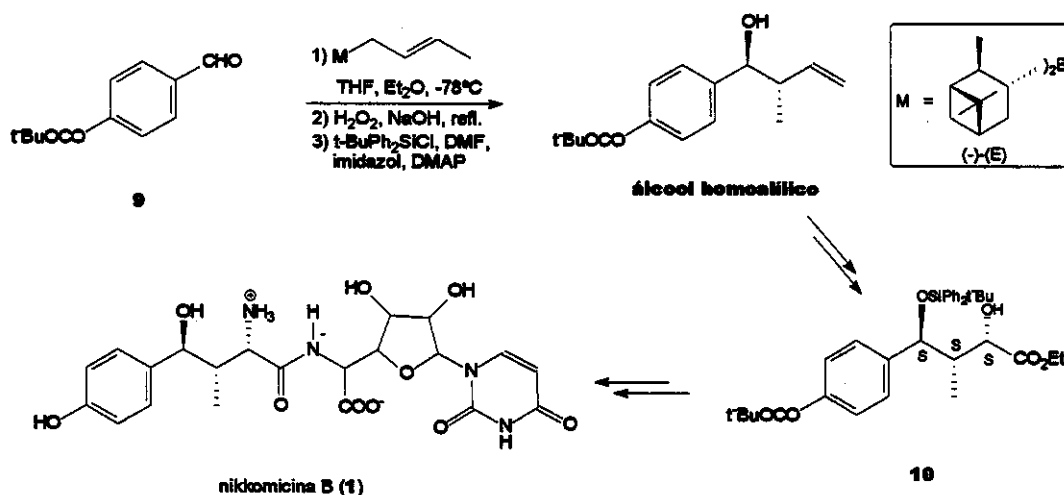
⁹ a) Dähn, U.; Hagenmaier, H.; Höhne, H.; König, W. A.; Wolf, G.; Zähler, H. *Arch. Microbiol.* **1976**, *107*, 249. b) Uramoto, M.; Kobinata, K.; Isono, K.; Higashijima, T.; Miyazawa, T.; Jenkins, E.E.; McCloskey, J. A. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *38*, 1599.

¹⁰ König, W.A.; Hass, W.; Dehler, W.; Fiedler, H.-P.; Zähler, H. *Liebigs Ann. Chem.* **1980**, 622.

¹¹ a) König, W.A.; Hahn, H.; Heitsch, H.; Rathmann, R.; Zimmerman, G.; Bormann, C.; Zähler, H. *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 803. b) Jäger, V.; Grund, H.; Buss, V.; Schwab, W.; Müller, I.; Schone, R.; Franz, R.; Ehrler, R. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1983**, *92*, 1039.

¹² a) Barret, A. G. M.; Lebold, S. A. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4875. b) Barret, A. G. M.; Lebold, S. A. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5818.

1.2. Esta adição forneceu o correspondente álcool homoalílico, que conduziu ao α -hidroxi éster 10 de configuração 2S,3S,4S. A partir do α -hidroxi éster 10, obteve-se a nikkomicina B, 1.



Esquema 1.2. Utilização do crotilidiisopinocanfenil borano na preparação do resíduo aminoácido

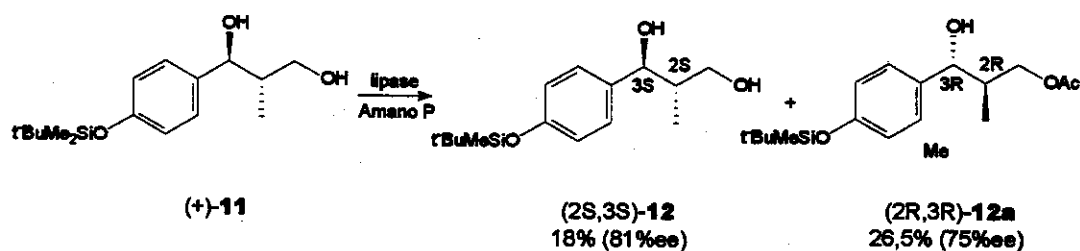
O reagente crotilidiisopinocanfenil borano, que foi introduzido por Brown,¹³ mostrou excelente controle estereoquímico e alta enantiosseletividade neste processo de indução quiral. Desta forma, foi descrita uma rota potencialmente geral para a síntese do (2S,3S,4S)- γ -hidroxi- β -metil- α -aminoácido, aspecto comum de resíduos aminoácidos *N*-terminal de nikkomicinas.

Um estudo mais recente foi publicado por Akita e Uchida que realizaram a síntese formal da nikkomicina B através da resolução enzimática de um álcool possuindo 2 centros estereogênicos 11 (Esquema 1.3),¹⁴ utilizando lipase de *Pseudomonas sp* em meio orgânico.

¹³ Brown, H.C.; Bhat, K.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 293; *ibid* **1986**, *108*, 5919.

¹⁴ Akita, H.; Chen, Y. C.; Uchida, K. *Tetrahedron: Asymm.* **1995**, *9*, 2131.

A biotransformação apresentou resultados significativos com a obtenção do álcool



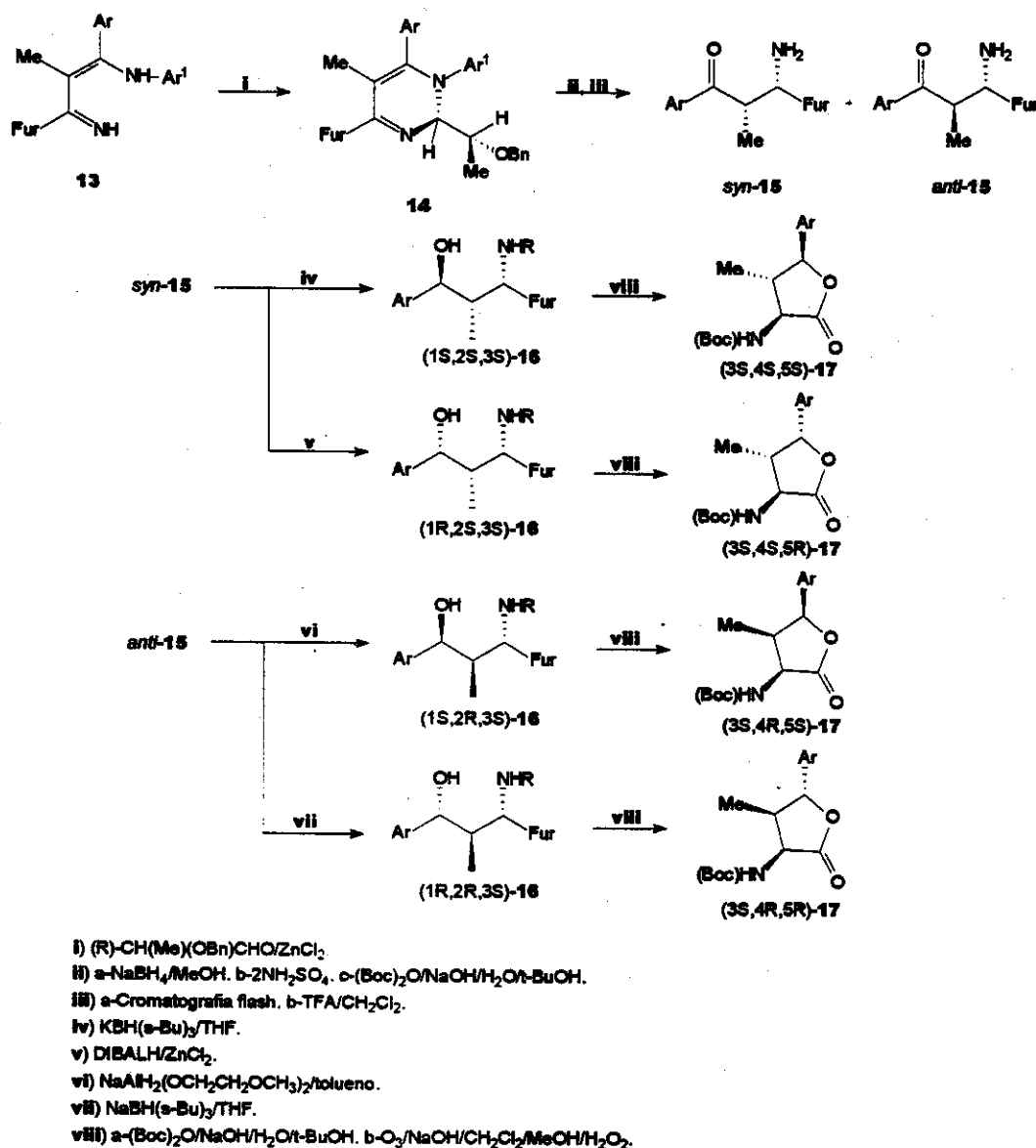
Esquema 1.3. Resolução enzimática de um diol com lipase

oticamente ativo (2S,3S)-12. O resíduo aminoácido *N*-terminal de nikkomicinas com a configuração (2S,3S,4S) foi obtido a partir de (2S,3S)-12 em 9 etapas, completando a síntese formal da nikkomicina B.

O resíduo aminoácido *N*-terminal foi objeto de estudo por parte do grupo de Barluenga que o preparou, segundo um enfoque diastereo e enantiosseletivo, através da utilização da unidade 1,3-aminoálcool enriquecida enantiomericamente, na estratégia de condensação de um azadieno com um aldeído quiral.¹⁵

As β -aminocetonas 15 diastereoisomericamente puras *syn* e *anti* foram sintetizadas a partir do 4-amino-1-azadieno 13 e (R)-aldeído-O-benzil láctico, como auxiliar quiral, via as correspondentes diidropirimidinas 14 (Esquema 1.4). Estas β -aminocetonas foram convertidas às lactonas 17 com alta diastereosseletividade através dos derivados 1,3-aminoálcool 16. Uma das lactonas 17 possui a configuração absoluta (3S,4S,5S) correspondente ao resíduo aminoácido *N*-terminal de nikkomicinas. Por esta metodologia também foram obtidas, pela primeira vez, as lactonas (3S,4R,5S)-17 e (3S,4R,5R)-17 a partir da β -aminocetona *anti*-15. Presumivelmente, o uso do (S)-aldeído-O-benzil láctico dará acesso aos enantiômeros das 4 lactonas 17, o que completaria a síntese dos 8 estereoisômeros do resíduo aminoácido *N*-terminal.

¹⁵ Barluenga, J.; Viado, A. L.; Aguilar, E.; Fustero, S.; Olavo, B. *J. Org. Chem.* 1993, 58, 5972.

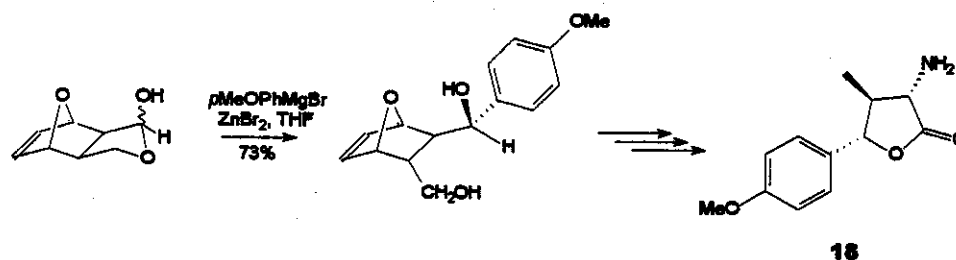


Esquema 1.4. Preparação de lactonas quirais com (R)-aldeído-O-benzil láctico

Bloch descreveu condições sobre as quais foram encontrados alto controle estérico, na adição de um reagente alquilorganometálico a aduto Diels-Alder de furanos.¹⁶ Esta metodologia foi aplicada na síntese altamente estereosseletiva, porém de muitas etapas do (2S,3S,4S)-2-amino-3-metil-4-(*p*-metoxifenil)-4-butanolídeo 18, um potencial precursor da unidade aminoácido *N*-terminal das nikkomicinas B, 1 e B_x, 2 (Esquema 1.5).¹⁷

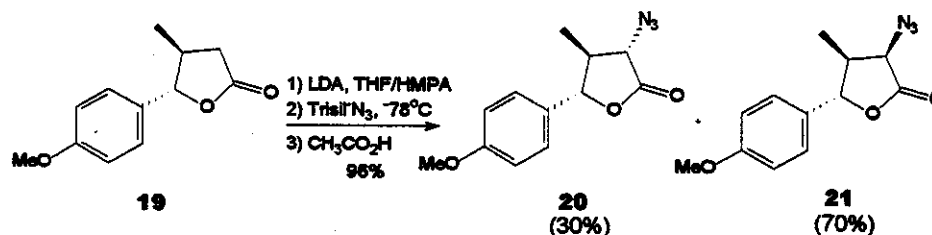
¹⁶ Bloch, R.; Gilbert, L. *J. Org. Chem.* 1987, 52, 4603.

¹⁷ Bloch, R.; Mandville, G.; Ahmar, M. *J. Org. Chem.* 1996, 61, 1122.



Esquema 1.5. Preparação de lactona quiral através da adição de organometálico a aduto Diels-Alder

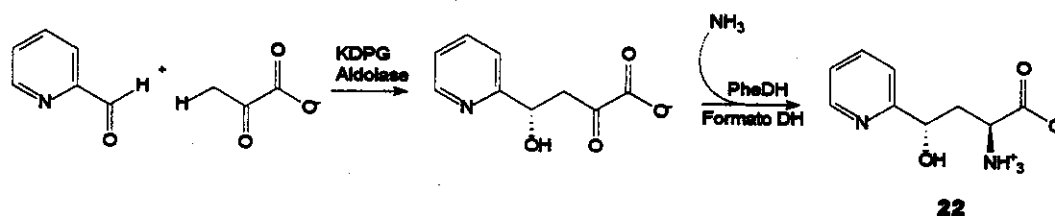
Uma das alternativas de azidação estudada proporcionou excelentes rendimentos das azidas **20** e **21** (Esquema 1.6). Estas azidas foram obtidas quando o enolato de lítio da lactona **19** foi tratado com arenosulfonilazidas na presença de pequenas quantidades de HMPA (Esquema 1.6). O uso de sulfonilazidas impedidas estericamente tal como a 2,4,6-triisopropilbenzenosulfonilazida (trisilazida) desenvolvida por Evans¹⁸ levou favoravelmente a uma reação estereosseletiva.



Esquema 1.6. Azidação eletrofilica com trisil azida

Toone reportou a síntese da porção aminoácido *N*-terminal das nikkomicinas K_x e K_z , enantiomericamente puras **22**, a partir de compostos químicos aquirais usando dois passos consecutivos catalisados por enzimas (Esquema 1.7).¹⁹ O primeiro utilizou uma reação aldol catalisada por *Piruvato aldolase*, e o segundo envolveu uma aminação redutiva catalisada por *Fenilalanina desidrogenase* de *Bacillus sphaericus* SCRC-R79a encontrada em *Escherichia coli*.

¹⁸ Evans, D.A.; Britton, T.C.; Ellman, J. A.; Dorow, R.L. *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 4011.



Esquema 1.7. Reação aldol e aminação catalisadas por enzimas

A síntese enantiosseletiva procedeu em alto rendimento e sem a formação de subprodutos, permitindo o isolamento do produto puro com pouca ou nenhuma etapa de purificação.

A parte nucleosídea foi objeto de uma eficiente síntese enantiosseletiva em 6 etapas, a partir do *cis*-dibenzoiloxi-2,5-diidrofurano por Trost e Shi²⁰, além de outras metodologias usando Pd(ϕ) como as aplicadas por Miller ou Aggarwal.²¹

1.3 α -Metilenação de carbonilas

A unidade estrutural α -metilenocetona é encontrada em muitos produtos de ocorrência natural, como sesquiterpenos (quiloscifona) e antibióticos (metilenomicina A).²²

A potencial utilidade do sistema vinílico altamente reativo tem sido demonstrada repetidamente na literatura. As α -metilenocetonas são amplamente usadas em sínteses orgânicas, devido a sua reatividade e especialmente pela sua habilidade de funcionar como aceptores de Michael.²³ Entre outras aplicações, os derivados de acrilofenona podem ser usados na preparação de alquilindononas que são usadas como intermediários pela indústria agroquímica ou farmacêutica.²⁴

¹⁹ Toone, E. J.; Henderson, D. P.; Shelton, M. C.; Cotterill, I. C. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7910.

²⁰ Trost, B. M.; Shi, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3037.

²¹ a) Miller, M. J.; Zhang, D. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 755. b) Aggarwal, V. K.; Monteiro, N.; Tarver, G. J.; Lindell, S. D. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 1192.

²² a) Hayashi, S.; Matsuo, A. *Tetrahedron Lett.* **1970**, 1289. b) Smith, A. B.; Scarborough, R.M. *J. Amer. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 7085.

²³ Stork, G.; D'Angelo, J. *J. Amer. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 7114. b) Schreiber, W. L.; Cormier, R. A.; Agosta, W.C. *J. Amer. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 4873. c) Hooz, J.; Layton, R. B. *J. Amer. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 7320.

²⁴ a) U. S. Pat. 4,587,357; U. S. Pat. 4,605,706 Merck & Co. b) EP9554 Schering AG. c) U. S. Pat. 4,022,386; U. S. Pat. 4,064,272; U. S. Pat. 4,117,012; U. S. Pat. 4,164,514 Pfizer Inc. d) U. S. Pat. 4,322,437; BE

A síntese de compostos carbonílicos α -metilenados pode ser conduzida através da clássica reação de Mannich. Esta é um protótipo da reação de formação da ligação carbono-carbono que envolve a adição de um carbono nucleofílico a um sal de imínio. A reação de Mannich consiste de três componentes: (i) uma amina primária ou secundária, (ii) um aldeído não enolizável, usualmente formadeído e (iii) um composto carbonílico. Estes componentes condensam com concomitante liberação de água para produzir uma nova base, conhecida como "base de Mannich".²⁵

Uma variante da clássica reação de Mannich, é a utilização do sal imínio pré-formado. Entre as vantagens de utilização do sal pré-formado destacam-se a rapidez e as condições brandas de reação, além da possibilidade de estocá-lo sem alterar sua reatividade.

Entre os sais de imínio pré-formados, o mais largamente utilizado é o sal *N,N*-dimetil(metileno)imínio e o mais difundido é o sal de iodo, conhecido também como "sal de Eschenmoser", $\text{Me}_2\text{N}^+=\text{CH}_2\text{I}^-$. Desde a sua preparação em 1971²⁶ muitos trabalhos tem sido reportados relatando sua utilização.²⁵ Porém, o sal de Eschenmoser é um reagente de alto custo e sua utilização deve ser direcionada para aplicações finas, e introduzido nas etapas finais de uma sequência sintética.

Takano desenvolveu em 1989, uma conveniente síntese de α -metilenoaldeídos a partir de álcoois primários, sem isolamento e purificação do aldeído intermediário.²⁷

O álcool primário 23, foi tratado com cloreto de oxalila, trietilamina, e dimetil sulfóxido,²⁸ seguido por cloreto de metileno *N,N*-dimetilamônio,²⁹ fornecendo o α -metileno aldeído 24 (Esquema 1.8). Vários α -metilenoaldeídos foram preparados desta maneira em bons rendimentos.

854567 Sandoz. e) Zacchei, A. G.; Dobrinsker, M. R.; Wilshouky, T. I.; Kwan, K. C.; White, S. D. *Drug Met. and Disp.* 1982, 10, 20.

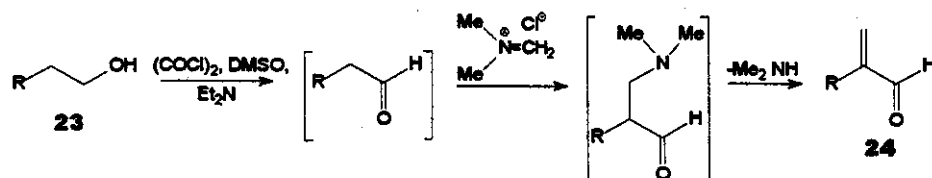
²⁵ Trost, B. M.; Fleming, I. *Comprehensive Organic Synthesis* 1991, Pergamon Press, New York, v. 8, cap.4.

²⁶ Eschenmoser, A.; Schreiber, J.; Maag, H.; Hashimoto, N. *Angew. Chem., Int. Ed.* 1971, 10, 330.

²⁷ Takano, S.; Inomata, K.; Samizu, K.; Tomita, S.; Yanase, M.; Suzuki, M.; Iwabuchi, Y.; Sugihara, T.; Ogasawara, K. *Chem. Lett.* 1989, 1283.

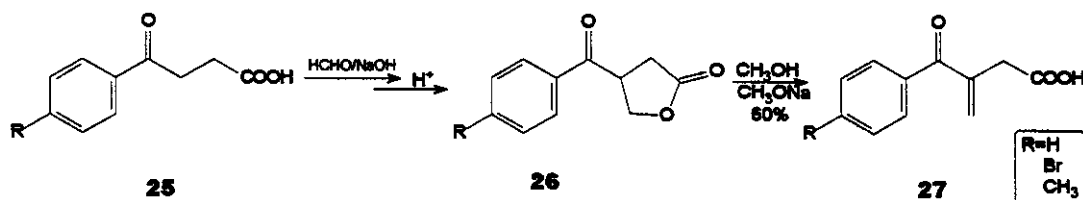
²⁸ Swern, D.; Mancuso, A. J. *Synthesis* 1981, 165.

²⁹ Tietze, L. -F.; Kinast, G. *Angew. Chem.* 1976, 88, 261.



Esquema 1.8. α -Metilação de álcoois primários via correspondente aldeído

Em 1980, Cignarella reportou um método brando de α -metilação de ácidos 3-aroilpropiónicos com formaldeído em meio alcalino.³⁰ Apesar de apresentar rendimentos razoáveis, o método não é direto e passa pela formação da furanona correspondente (Esquema 1.9). Na primeira reação, foram desenvolvidas condições e proporções de reagentes específicos para favorecer a hidroximetilação dos ácidos 3-aroilpropiónicos **25** e posterior lactonização em meio ácido para fornecer **26**.



Esquema 1.9. Hidroximetilação de ácidos 3-aroilpropiónicos

Na segunda reação, tratou-se as lactonas **26** com metóxido de sódio a temperatura ambiente por 15 minutos seguido de acidificação do meio, para produzir os derivados de acrilofenona **27** em 60% de rendimento a partir de **26**.

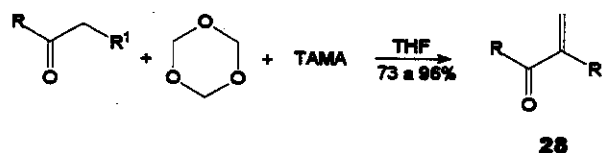
Vários outros métodos indiretos foram desenvolvidos para a α -metilação de cetonas.³¹

Um método direto de α -metilação de cetonas foi divulgado em 1978 por Grass.³² O método é análogo à clássica reação de Mannich e envolve a utilização do trifluoroacetato de *N*-metilanilínio (TAMA), facilmente produzido em grande escala.

³⁰ Cignarella, G.; Grella, G.; Curzu, M. M. *Synthesis* 1980, 825.

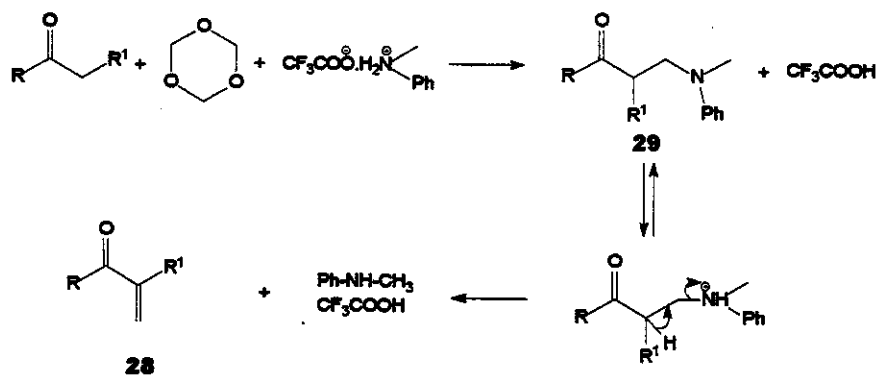
³¹ a) McMurry, J. E.; Ksander, G. M.; Johnson, M. J. *Org. Chem.* 1977, 42, 1180. b) Smith, B. F.; Miller, R. B. *Tetrahedron Lett.* 1973, 5039. c) Wood, D.; Manson, A. J. *J. Org. Chem.* 1967, 32, 3434.

Várias α -metilenocetonas (**28**) foram preparadas em bons rendimentos refluxando a cetona com trioxano e TAMA em solvente anidro aprótico (Esquema 1.10).



Esquema 1.10. α -Metilenação com TAMA

O meio próximo da neutralidade e condições apróticas contribuíram para a estabilidade do produto formado durante a reação, além de evitar dialquilação e polimerização. O mecanismo postulado envolve a formação inicial da base de Mannich **29**, formada pela condensação da cetona e aldeído. Após protonação e β -desaminação a α -metilenocetona **28** foi produzida como único produto de reação (Esquema 1.11).



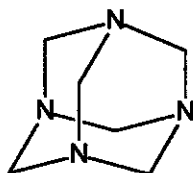
Esquema 1.11. Mecanismo de α -Metilenação com TAMA

O método mostrou ser altamente regioseletivo quando empregou-se metilcetonas como substratos. Neste caso, a substituição no carbono primário (CH_3) ocorreu com uma extensão de 85:15 quando comparada ao carbono secundário (CH_2), aumentando-se assim a cadeia carbônica.^{31b}

³² a) Grass, J. L. *Tetrahedron Lett.* 1978, 32, 2111. b) 2955.

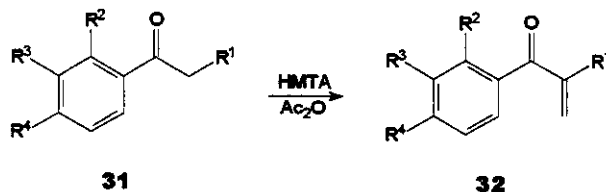
Uma metodologia alternativa de α -metilação de arilcetonas envolve o seu tratamento com paraformaldeído, dimetilamina e ácido acético. No entanto, esta metodologia é insatisfatória devido aos baixos rendimentos e formação de sub-produtos.³³

Um outro protocolo de α -metilação de arilcetonas foi divulgado recentemente por Bhattacharya.³⁴ A metodologia faz uso da base altamente impedida hexametileno tetramina **30** (HMTA), reagente de baixo custo, como agente de metilação.



HMTA, **30**

A reação das arilcetonas **31** com HMTA e anidrido acético seguido por tratamento aquoso produziu os derivados de acrilofenona **32** em bons rendimentos conforme representado no Esquema 1.12. O mecanismo desta reação será discutido posteriormente no item 3.3.



Esquema 1.12. α -Metilação de aril cetonas com HMTA

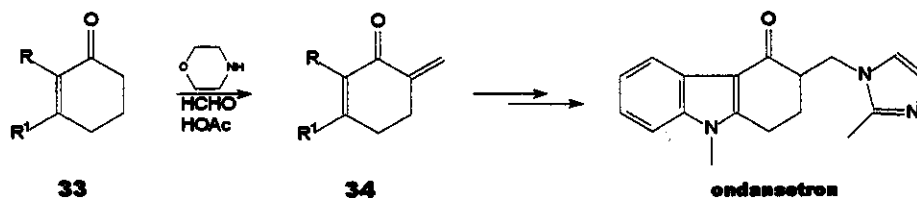
No entanto esta metodologia não apresenta regioselectividade e evidentemente não deve ser aplicada para alquilcetonas.

Mais recentemente, Kim divulgou um protocolo para α -metilação direta via base de Mannich.³⁵ A cetona cíclica **33** foi tratada com solução aquosa de formaldeído 37% na presença de quantidades catalíticas de uma amina secundária (morfolina), refluxando-se em ácido acético para fornecer diretamente a cetona exocíclica α,β -insaturada **34** (Esquema 1.13).

³³ a) Tramontini, M.; Angionlini, L. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 1791. b) Pinnick, H. W.; Brown, S. P.; Mclean, E. A.; Zoller, L. W. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3758.

³⁴ Bhattacharya, A.; Segmuller, B.; Ybarra, A. *Synth. Commun.* **1996**, *26*, 1775.

³⁵ Kim, M. Y.; Lim, J. I.; Kim, D. S.; Kim, I. Y.; Yang, J. S. *Heterocycles* **1997**, *45*, 2041.



Esquema 1.13. α -Metilação de cetonas cíclicas.

O objetivo do trabalho foi a procura de um eficiente processo para a síntese do ondansetron, que foi obtido a partir de 34.³⁵

1.4 Biocatálise

1.4.1 Desenvolvimento da biocatálise em química orgânica

Pasteur em 1862,³⁶ com a oxidação de etanol a ácido acético utilizando uma cultura pura de *Bacterium xylinum*, foi um dos pioneiros a estudar e tratar cientificamente uma biotransformação. A ação redutora do fermento de pão, através do microorganismo *Saccharomyces cerevisiae*, foi primeiramente observada por Dumas em 1874, na liberação de ácido sulfúrico em uma suspensão do microorganismo contendo enxofre pulverizado.³⁷

O interesse pela síntese de substâncias quirais enantiomericamente puras, deve-se à necessidade de compreender os processos biológicos e ao reconhecimento geral de que a quiralidade tem importância vital na natureza. Tal interesse tem promovido um grande desenvolvimento da biocatálise, sendo as transformações mediadas por microorganismos e enzimas amplamente empregadas em sínteses orgânicas.³⁸ Porém, enquanto que, a habilidade de enzimas agirem como catalisadores quirais específicos já é, há tempo, conhecida principalmente pela indústria farmacêutica, somente há poucos anos processos

³⁶ Pasteur, L. C. R. *Hebd. Seances Acad. Sci.* **1862**, 55, 28.

³⁷ Dumas, J. B. *Ann. Chim. Phys.* **1874**, 5, 3.

³⁸ a) Yamada, H.; Shimizu, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1998**, 27, 622. b) Roberts, S. M. *Chem. Soc.; Perkin Trans. I* **1998**, 157.

bioquímicos tornaram-se aceitos como técnicas experimentais rotineiras em laboratórios de síntese orgânica.³⁹

A habilidade das enzimas em conduzir transformações químicas que são impossíveis ou impraticáveis de outra forma, especialmente na área de bioquímica, aliada a necessidade de trocar os catalisadores existentes atualmente (geralmente constituídos de metais pesados ou metais de transição, altamente nocivo ao ambiente) por métodos catalíticos “ambientalmente corretos”, torna o uso dos biocatalisadores um dos maiores desafios da síntese orgânica na atualidade.

1.4.2 *Catalisadores enzimáticos e microbiológicos*

Enzimas são proteínas que catalisam a maioria das reações *in vivo*, catalisando também reações que envolvem substratos naturais e não naturais *in vitro*.

As reações envolvendo biotransformação podem ser divididas em sistemas que empregam enzimas isoladas ou células inteiras. A utilização de enzimas isoladas como biocatalisadores apresenta a vantagem de alta especificidade, uma vez que não há competição entre diferentes enzimas, além de maior produtividade e facilidade de isolamento dos produtos. Por outro lado, seu alto custo e a necessidade de regeneração de cofatores durante o processo de biotransformação são desvantagens significativas destes biocatalisadores. Muitas das enzimas que catalisam reações químicas de grande interesse requerem o uso de coenzimas como NAD(P)/H. Esses cofatores são muito caros, por isso o desenvolvimento de metodologias de uso desses cofatores em quantidades não equimolares, através da recuperação dos mesmos *in situ*, permitiu o uso econômico desses biocatalisadores. A utilização de células inteiras, que é um complexo multi-enzimático, apresenta a vantagem do baixo custo e a regeneração dos cofatores no meio intra-celular. Entre as desvantagens destes biocatalisadores estão as reações paralelas que ocorrem devido ao metabolismo celular, a menor produtividade e a baixa tolerância a concentração de substrato e solventes orgânicos.⁴⁰

³⁹ a) Jones, J. B. *Tetrahedron* 1986, 42, 3351; b) Santaniello, E.; Ferraboschi, P.; Grisenti, P.; Manzocchi, A. *Chem. Rev.* 1992, 92, 1071; c) Shoffers, E.; Globiowski, A.; Johnson, C. R. *Tetrahedron* 1996, 52, 3769; d) Wong, C. -H.; Whitesides, G. M. *Enzymes in Synthetic Organic Chemistry*. Tetrahedron Organic Chemistry Series. V. 12. Elsevier Science Ltd. 1994.

⁴⁰ Faber, K. “*Biotransformations in Organic Chemistry*”; Springer-Verlag: Berlim Heidelberg. 1997, p.1.

Os dois sistemas de biotransformação catalisam uma larga quantidade de reações como (i) hidrólises, (ii) óxido-reduções, (iii) adições, (iv) eliminações, (v) alquilações, etc. Eles são catalisadores muito eficientes, aumentando a velocidade da reação de 10^6 a 10^7 vezes e possuem alta quimio-, regio- e estereosseletividade, pois as enzimas possuem estrutura tridimensional complexa e conseguem distinguir grupos funcionais quimicamente situados em diferentes regiões da mesma molécula substrato. Como os biocatalisadores atuam em condições brandas, as reações paralelas de decomposição, isomerização, racemização e os rearranjos são minimizados. Apresentam também tolerância sobre uma grande variedade de substratos não naturais e são ecologicamente corretos, já que são completamente degradados pelo meio ambiente.³⁹ Entretanto, a grande desvantagem destes biocatalisadores é a existência na natureza como uma única forma enantiomérica.

As enzimas são constituídas de L-amino ácidos e desta forma, muitas vezes é difícil obter a configuração desejada quando a reação caminha no sentido oposto. Como a maior atividade destes biocatalisadores é encontrada em meio aquoso, a natureza lipofílica de grande parte dos substratos torna-se outro obstáculo para o sucesso do processo.

As biotransformações com células inteiras, transformações microbiológicas, são algumas vezes confundidas com fermentação. Porém, as diferenças entre os dois processos são acentuadas. Na fermentação, processo que envolve respiração anaeróbia, 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. Vários compostos são obtidos por processos fermentativos, tais como ácidos orgânicos, solventes, antibióticos, ácidos nucleicos e amino ácidos.⁴¹ Em contraste, nas transformações microbiológicas são utilizadas tanto células vivas quanto mortas, sendo o microorganismo apenas o portador das enzimas intra ou extracelulares responsáveis pela biocatálise. Neste caso, as fontes de carbono e nitrogênio são substituídas pelos substratos desejados, viabilizando assim o potencial da biocatálise para uma ampla gama de substâncias *não naturais*.³⁸

A classificação da "International Union of Biochemistry" divide as enzimas em 6 grupos através do tipo de reação que catalisam.⁴²

⁴¹ Kieslich, K. "Biotechnology"; Rehm, H. J.; Reed, G.; Verlag Chemie: Weinheim, 1984, vol. 6a, p. 387.

⁴² Faber, K. "Biotransformations in Organic Chemistry. A Textbook". Springer-Verlag 1997, p. 3-6.

- (1) *Oxidoreductases*: enzimas deste grupo catalisam reações de oxidação-redução envolvendo oxigenação, como $C-H \rightarrow C-OH$, ou remoção ou adição de Hidrogênio como $CH(OH) \leftrightarrow C=O$ e $CH-CH \leftrightarrow C=C$.
- (2) *Transferases*: enzimas que mediam a transferência de grupos acil, açúcares, fosforil e grupos aldeído ou cetona, de uma molécula para outra.
- (3) *Hidrolases*: enzimas que catalisam a hidrólise/formação de glicosídeos, anidridos e ésteres, bem como amidas, peptídeos e outras funções contendo ligação C-N.
- (4) *Liases*: essas enzimas catalisam adição, usualmente de HX , a duplas ligações como $C=C$, $C=N$ e $C=O$, e também os processos reversos.
- (5) *Isomerases*: podem efetuar várias isomerizações, incluindo migração da ligação $C=C$, isomerização *cis-trans* e racemização.
- (6) *Ligases*: também chamadas sintetases, estas enzimas mediam a formação/clivagem de ligações C-C, C-O, C-S, C-N e ésteres de fosfato.

As *oxidoreductases* e as *hidrolases* são as mais empregadas em síntese, sendo responsáveis por 90% dos artigos publicados na área de catálise enzimática.³⁸ Ambas podem ser utilizadas em suas formas parcial ou completamente puras, extraídas de microorganismos e vegetais ou de órgão de mamíferos (fígado, rim, etc.).

As *oxidoreductases* são subdivididas em *oxidases*, *oxigenases* e *desidrogenases*. Dentre estas, as *Álcool desidrogenases* (EC 1.1.1.1)⁴³ são as enzimas responsáveis pela

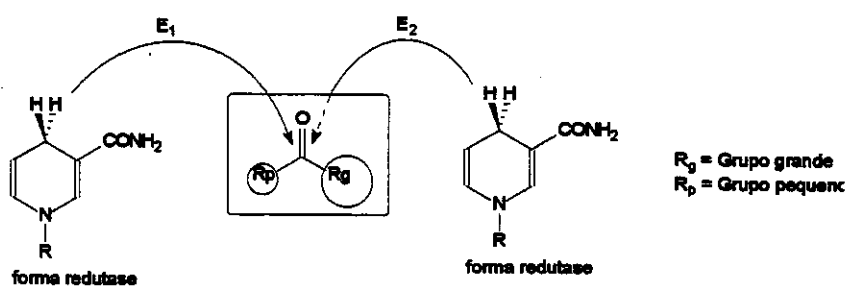


Figura 1.3. Transferência estereosseletiva de hidrogênio catalisada por Álcool desidrogenase

⁴³ International Union of Biochemistry *Enzyme Nomenclature*; Academic Press: New York, 1979.

catálise na redução estereosseletiva de compostos carbonílicos e derivados, conforme ilustrado na Figura 1.3.

O processo de atuação das *Álcool desidrogenases* requer a presença de cofatores (coenzimas) que são os responsáveis pela transferência de hidrogênio, no caso das biorreduções. Na figura 1.3, E₁ é representado pelas enzimas *Álcool desidrogenases* de *Pseudomonas sp* e *Lactobacillus kefir*, enquanto que E₂ é representado pela enzima *Álcool desidrogenase* de *Thermoanaerobium brockii*. Os cofatores não são utilizados em quantidades estequiométricas, sendo necessário portanto um sistema de regeneração *in situ*.⁴⁴

A maioria das *Álcool desidrogenases* utiliza cofatores nicotinamidas NAD(P)H, que podem ser reciclados através de métodos químicos ou enzimáticos (Figura 1.4).

Vários trabalhos a respeito de reduções assimétricas de compostos carbonílicos utilizando enzimas, mais especificamente *Álcool desidrogenases*, foram publicados nos últimos anos.⁴⁵ Entre eles pode-se destacar alguns exemplos de aplicação de enzimas provenientes de leveduras (YAKH)^{45a} e de fígado de equinos (HLADH).^{45b}

1.4.3 Síntese microbiológica assimétrica

1.4.3.1 Considerações gerais

Os microorganismos mais utilizados em biorreduções assimétricas são os fungos, leveduras e bactérias. O tipo de microorganismo mais adequado para cada reação é determinado fundamentalmente pela sua especificidade em relação ao substrato e à reação desejada, mas deve-se levar em consideração a disponibilidade, o manuseio e a patologia deste microorganismo.

Os microorganismos de uma forma geral se adaptam bem a novos ambientes e apresentam altas velocidades de crescimento, o que facilita o seu cultivo e uso em grande

⁴⁴ Wong, C.-H.; Whitesides, G. M. *Enzymes in synthetic organic chemistry*, Pergamon, Elsevier Science Inc: New York, 1994.

⁴⁵ a) Nakamura, K.; Miyai, T.; Kawai, Y.; Nakajima, N.; Ohno, A.; *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1159. b) Doods, D. R.; Jones, J. B.; *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 577. c) Seelbach, K.; Riedel, B.; Hummel, W.; Kula, M.-R.; Tishkov, V.I.; Egorov, A. M.; Wandrey, C.; Kragl, U. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1377. d) Shen, G.-J.;

escala levando o processo a um baixo custo. Os microorganismos são fontes naturais de um grande número de enzimas e realizam o processo de regeneração dos cofatores através do próprio metabolismo celular. Nas reações microbiológicas, o emprego de sistemas com culturas de células em crescimento é o procedimento mais comum. Porém, também são importantes as transformações com células em repouso (meio tamponado e sem adição de nutrientes) e com células imobilizadas. O sistema ideal depende da fisiologia, metabolismo e biossíntese de cada microorganismo.^{38a}

O processo de utilização de células inteiras pode, às vezes, apresentar a desvantagem de ser parcialmente estereosseletivo devido à competição de duas ou mais enzimas, gerando isômeros de configurações opostas.⁴⁶ Outros argumentos contrários ao uso de microorganismos devem ser considerados. A não reprodutibilidade e o fato das biorreações serem processos intrinsecamente sujos, devido à quantidade de substâncias contidas no meio reacional como massa celular, nutrientes, suportes e metabólitos usuais, são alguns destes argumentos contrários ao uso de microorganismos.⁴⁷

Alternativamente têm sido muito estudado métodos visando o aumento da produtividade, o controle das reações paralelas e a simplificação do processo, de uma maneira geral, como por exemplo o uso de biorreatores de fluxo contínuo.⁴⁸

1.4.3.2 *Saccharomyces cerevisiae*

Entre os microorganismos mais utilizados em biotransformações envolvendo oxido-redução está o *Saccharomyces cerevisiae*, que é encontrado no fermento de pão.⁴⁹ Esta levedura de crescimento aeróbio possui habilidade de dispersar-se rapidamente em água e tem como principais atributos a facilidade de obtenção, armazenamento e utilização. Além

Wang, Y.-F.; Bradshaw, C.; Wong, C.H.; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1990, 677. c) Bradshaw, C. W.; Hummel, W.; Wong, C.-H. *J. Org. Chem.* 1992, 57, 1532.

⁴⁶ Sih, C. J.; Chen, C.-S. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1984, 23, 570.

⁴⁷ Servi, S. *Synthesis* 1990, 1.

⁴⁸ a) Abdul, M. M. *Bio/Technology* 1993, 11, 690. b) Wendhausen Jr., R.; Moran, P. J. S.; Joékes, I.; Rodrigues, J. A. R. *J. Mol. Catal. B: Ensim.* 1998, 5, 57.

⁴⁹ a) Csuk, R.; Glanzer, B. *Chem. Rev.* 1991, 91, 49. b) Santaniello, E.; Ferraboshi, P.; Grisenti, P.; Manzocchi, A. *Chem. Rev.* 1992, 92, 1071.

disso, é bastante resistente e capaz de se desenvolver numa faixa de pH de 2,5 a 8,5 e a temperatura de 5 a 40°C.

Vários trabalhos foram publicados nos últimos anos enfatizando o controle estereoquímico das reações efetuadas com *Saccharomyces cerevisiae*. O uso de solventes orgânicos como meio reacional,⁵⁰ a adição de inibidores enzimáticos,⁵¹ a variação do pH⁵² e da temperatura,⁵³ modificações na estrutura do substrato (i.e. variação de grupos ésteres)⁵⁴ e o uso de células imobilizadas,⁵⁵ destacam-se entre eles. A utilização do *Saccharomyces cerevisiae* imobilizado em argilominerais como crisotila e montmorilonita, mostraram aumentos representativos nos excessos enantioméricos e nos rendimentos das biorreduções quando comparados com células livres (Seção 1.4.3.5).⁵⁶

A atividade específica do *Saccharomyces cerevisiae* ainda é pouco conhecida, sendo poucos os trabalhos que procuraram comparar a atividade de enzimas isoladas em relação ao sistema celular intacto do microorganismo.⁵⁷

1.4.3.3 Reduções assimétricas microbiológicas

As biotransformações mais utilizadas em síntese orgânica são as reduções microbiológicas empregando *Saccharomyces cerevisiae*. O mecanismo de redução envolve uma transferência estereosseletiva de hidrogênio do cofator para uma das faces da carbonila ou da ligação dupla C=C. No processo ocorre simultaneamente a regeneração do cofator

⁵⁰ 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.

⁵¹ a) Nakamura, K.; Nakajima, N.; Kawai, Y.; Ohno, A. *J. Org. Chem.* 1991, 56, 4778; b) Fantin, G.; Kawai, Y.; Ohno, A. *Tetrahedron Lett.* 1990, 31, 267.

⁵² a) Fadnavis, N. W.; Vadivel, S. K.; Bhalerao, U. T. *Tetrahedron: Asymm.* 1997, 8, 2355; b) Fantin, G.; Fogagnolo, M.; Guerzoni, M. E.; Medici, A.; Pedrini, P.; Polis, S. *J. Org. Chem.* 1994, 59, 924.

⁵³ Nakamura, K.; Kawai, Y.; Ohno, A. *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 2927.

⁵⁴ 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.

⁵⁵ Nakamura, K.; Kawai, Y.; Oka, S.; Ohno, A. *Tetrahedron Lett.* 1989, 30, 2245.

⁵⁶ 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.

⁵⁷ a) Kawai, Y.; Hayashi, M.; Inaba, Y.; Saitou, K.; Ohno, A. *Tetrahedron Lett.* 1998, 39, 5225. b) Nakamura, K.; Nakajima, N.; Kawai, Y.; Ohno, A. *J. Org. Chem.* 1991, 56, 4778; c) Nakamura, K.; Kawai,

NAD(P)H utilizando açúcar como fonte de energia como mostrado na Figura 1.4.

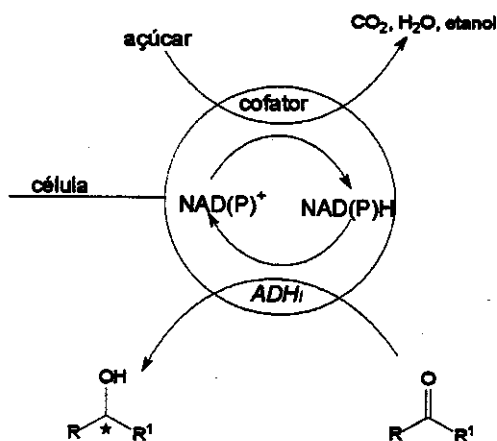


Figura 1.4. Mecanismo de redução de compostos carbonílicos por *Saccharomyces cerevisiae*

Vários exemplos recentes da aplicação de *Saccharomyces cerevisiae* na biorredução enantiosseletiva de compostos carbonílicos e metilênicos foram divulgados na literatura.⁵⁸

1.4.3.4 Regra de Prelog

Em 1964, Prelog⁵⁹ observou que a estereosseletividade da biorredução de cetonas alicíclicas com culturas de *Curvularia falcata* dependia do tamanho dos grupos

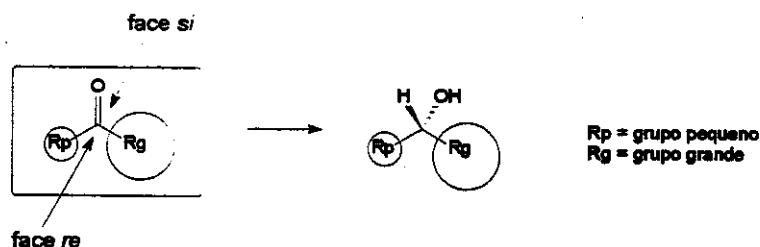


Figura 1.5. Regra de Prelog para biotransformação de compostos carbonílicos

Y.; Ohno, A. *Tetrahedron Lett.* 1990, 31, 267; d) Shieh, W. R.; Sih, C. J. *Tetrahedron Asymm.* 1993, 4, 1259; e) Shieh, W. R.; Gopalan, A. S.; Sih, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* 1985, 107, 2993.

⁵⁸ Maguire, A. R.; Lowney, D. G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1997, 235. b) Ferraboschi, P.; Elahi, S. R. T.; Verza, E.; Meroni-Rivolla, F.; Santaniello, E. *Synlett* 1996, 1176. c) Nakamura, K.; Nakajima, N.; Kawai, Y.; Ohno, A. *J. Org. Chem.* 1991, 56, 4778. d) Rotthaus, O.; Krüger, D.; Demuth, M.; Schaffner, K. *Tetrahedron* 1997, 53, 935.

diretamente ligados à carbonila. O modelo criado para explicar esta estereosseletividade está representado na Figura 1.5, o qual atualmente é conhecido como a Regra de Prelog. Neste modelo, os grupo Rg e Rp adjacentes à carbonila representam os grupos grande e pequeno, respectivamente. O curso estereoquímico da reação segue através da 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*.⁶⁰

Para atribuir as configurações das faces enantiotópicas da carbonila deve-se considerar apenas os tamanhos dos grupos. Os tamanhos dos grupos adjacentes à carbonila nem sempre coincidem com a convenção de Cahn-Ingold-Prelog que adota a ordem por número atômico. Assim, a regra de Prelog determina em qual das faces se dará a transferência do hidrogênio, e a atribuição da configuração dos produtos formados deve seguir as 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 destas regras de forma absoluta.

1.4.3.5 Imobilização de biocatalisadores

O principal objetivo da imobilização é restringir a mobilidade dos biocatalisadores, proporcionando assim um aumento de produtividade e estabilidade operacional. Além disso, o uso de enzimas e células microbiais imobilizadas possibilita a reutilização, e facilita o isolamento dos produtos.⁶¹ Os métodos de imobilização podem ser classificados em três categorias.

- (1) *Imobilização por aprisionamento*: a imobilização em matrizes de arginato de cálcio é a mais comum e apresenta como inconveniente a difusão limitada do substrato no gel.

⁵⁹ Prelog, V. *Pure Appl. Chem.* 1964, 9, 119.

⁶⁰ Hummel, W. *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.* 1997, 58, 145.

⁶¹ a) Dervakos, G.A.; Webb, C.O. *Biotech. Adv.* 1991, 9, 559; b) Scott, C.D. *Enzyme Microbiol. Technol.* 1987, 9, 66.; c) Hartmeier, W. *Immobilized Biocatalysts*; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 1988, p. 14.

- (2) *Reticulação*: está baseada na ligação covalente entre as células do biocatalisador e tem como desvantagem a diminuição da atividade catalítica.
- (3) *Adsorção*: é o processo mais antigo e o mais simples. Consiste na aderência dos biocatalisadores à superfície do suporte, que pode ser de natureza orgânica ou inorgânica, através de métodos físicos como atrações eletrostáticas.

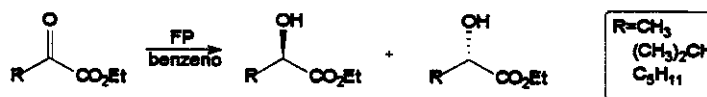
Os demais processos de suporte em materiais sólidos baseiam-se em ligações iônicas e covalentes com o catalisador, estes entretanto podem em alguns casos danificar as enzimas ou células.

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

Nosso grupo de pesquisa tem desenvolvido aplicações do argilomineral montmorilonita K10 em reações catalisadas por *Saccharomyces cerevisiae*.⁶² Este argilomineral pertence à classe das montmorilonitas denominadas 2:1 (ou TOT), que significa a constituição estrutural laminar em duas camadas de silicatos SiO₄ tetraédricos para cada camada de aluminatos AlO₆ octaédricos.⁶³

1.4.3.6 Redução catalisada por *Saccharomyces cerevisiae* em solventes orgânicos

Nakamura⁶⁴ divulgou o uso de fermento de pão (FP) desidratado não suportado para a redução de α -cetoésteres em solvente orgânico (Esquema 1.14), assumindo este como



Esquema 1.14. Biotransformação microbiológica usando solvente orgânico

⁶² a) Sorrilha, A. E. P. M.; Marques, M.; Joéls, I.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R. *Biomed. Chem. Lett.* 1992, 2, 191. b) Kreutz, O. C.; Moran, P. J. S.; Rodrigues, J. A. R. *Tetrahedron: Asymm.* 1997, 8, 2649.

⁶³ Ballantine, J. A. em: Smith, K. (ed) "Solid Supports and catalysts in Organ. Synthesis", Ellis Horwood Ltd. N. Y., 1992, Cap. 4.

⁶⁴ Nakamura, K.; Kondo, S.; Kawai, Y.; Ohno, A. *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 7075.

sendo o primeiro exemplo do uso de *Saccharomyces cerevisiae* em solvente orgânico sem nenhuma proteção.

O sucesso da biotransformação foi obtido através do controle da quantidade de água utilizada, sendo que não houve redução utilizando somente benzeno anidro. Usualmente a quantidade de água gira em torno de 0,2–1,2 equivalente (mL de água/g de FP seco), sendo que quantidades maiores de água inibem drasticamente a redução. Os melhores resultados foram obtidos com 0,4 equivalentes de água. Notou-se a tendência de formação de composto R utilizando-se o sistema estudado.

Jayasinghe⁶⁵ estudou a redução do acetoacetato de etila em vários solventes orgânicos. Ao adicionar o acetoacetato de etila e o FP seco em éter de petróleo, à temperatura ambiente e sob agitação, nenhuma reação ocorreu em 24 horas. Porém, ao adicionar gradualmente pequenas quantidades de água, a reação completou quando a quantidade de água atingiu 0,8mL/g de FP.

Utilizando tolueno, éter etílico e tetracloreto de carbono, não houve conversão total, e, também nestes casos, a reação só ocorria com a adição de pequenas quantidades de água. Nos casos onde a conversão não foi total, esta variou de 53 a 58% e em todos os casos os excessos enantioméricos foram altos, variando entre 96 a 98%.

Jayasinghe também observou que não há influência do pH no resultado da redução, mas que, a razão água/solvente/FP afeta diretamente o rendimento. Utilizando acetona, acetonitrila, clorofórmio, diclorometano, *N,N*-dimetilformamida, etanol, acetato de etila, etil-metil-cetona, isobutil-metil-cetona, e tetraidrofurano, não obteve-se sucesso na redução, independente da razão solvente/água/fermento.

A partir dos resultados obtidos, chegou-se a conclusão que (i) 0,8mL de água/g FP é a quantidade mínima para formar um filme que hidrata o fermento e agir como um bloqueio para alguma ação danosa que possa ser causada pelo solvente. (ii) solventes hidrofílicos podem distorcer essa camada de proteção e causar a inativação da enzima, enquanto que solventes hidrofóbicos, com menos interação com a água, permitem uma maior proteção do fermento, sendo portanto mais indicados para este tipo de reação.

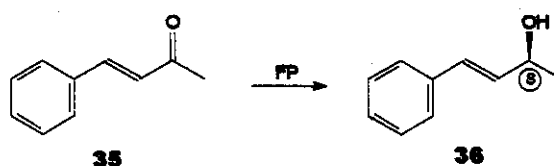
⁶⁵ Jayasinghe, L. Y.; Kodituwakku, D., Smallridge, A. J.; Trehwella, M. A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1994**, *67*, 2528.

Rotthaus⁶⁶ estudou a redução de α e β -cetoésteres em solventes orgânicos e comparou os resultados de conversão e excesso enantiomérico com os de experimentos realizados em meio aquoso. Uma série de β -cetoésteres foi estudada também por Medson⁶⁷ e os resultados da reação em solventes orgânicos foram comparados com os já citados na literatura⁶⁸ para os mesmos compostos, onde as reações foram conduzidas em fase aquosa. Variando a relação fermento (g)/substrato (mmol), foi possível a obtenção de rendimentos isolados de 57 a 96%, valores superiores aos até então reportados. Além disto, alguns substratos que não sofreram biorredução em fase aquosa, foram biorreduzidos enantiosseletivamente em meio orgânico. Todos os álcoois estudados apresentaram a estereoquímica S.

1.4.4 Biorredução de cetonas α,β -insaturadas e γ -cetoésteres

Embora a área da biocatálise esteja em um estágio avançado de desenvolvimento, incluindo um número de reduções de ligações dupla carbono-carbono funcionalizadas com grupos hidroximetil, formil e nitro catalisadas por FP, pouca atenção tem sido dedicada a biorredução de enonas conjugadas.⁶⁹

Servi divulgou a biorredução da cetona α,β -insaturada 35 com FP fornecendo predominantemente o álcool alílico S 36 (Esquema 1.15).⁷⁰



Esquema 1.15. Redução de cetona α,β -insaturada com FP

⁶⁶ Rotthaus, O.; Krüger, D.; Demuth, M.; Schaffner, K. *Tetrahedron* 1997, 53, 935.

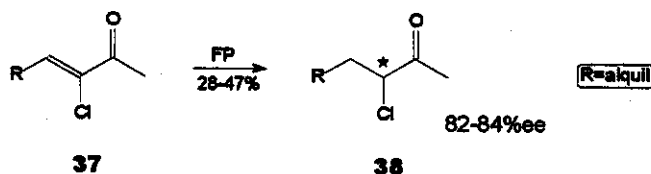
⁶⁷ Medson, C.; Smallridge, A. J.; Trehwella, M. A. *Tetrahedron: Asymm.* 1997, 8, 1049.

⁶⁸ a) Muller, R.; Lingens, F. *Angew. Chem., Int. Ed.* 1986, 25, 779; b) Seebach, D.; Sutter, M. A.; Weber, R. H. *Org. Synth.* 1984, 63, 1; c) Seebach, D.; Zuger, M. *Helv. Chim. Acta* 1982, 65, 495; d) Hudlicky, T.; Tsunoda, T.; Gadamasetti, K.; Mury, J. A.; Keck, G. E. *J. Org. Chem.* 1991, 56, 3919.

⁶⁹ Sakai, T.; Utsaki, M.; Matsumoto, S.; Hidaka, S.; Imajo, N.; Tsuboi, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1991, 64, 3473.

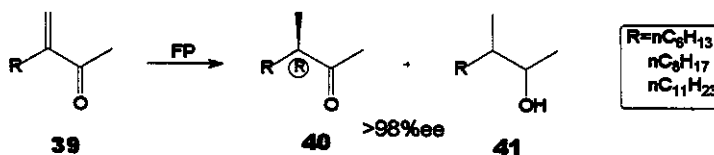
⁷⁰ Servi S.; Fuganti, C.; Grasselli, P.; Spreafico, F.; Zirotti, C.; Casati, P. *J. Chem. Res., Synop.* 1984, 112.

Por outro lado, Utaka divulgou que a redução com FP de ligação dupla carbono-carbono de enonas funcionalizadas, tais como **37**, produzem as cetonas saturadas **38** com altas purezas ótica (Esquema 1.16).⁷¹



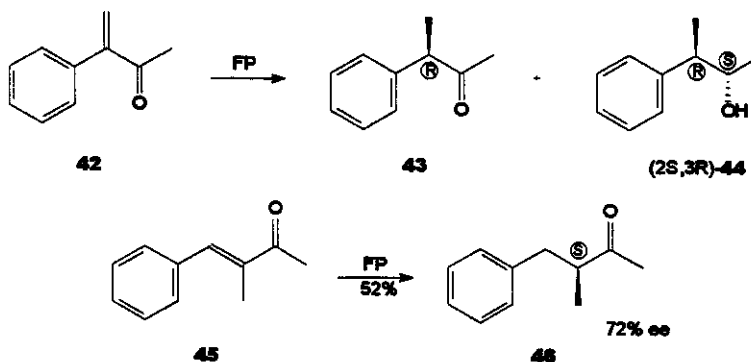
Esquema 1.16. Redução de enonas funcionalizadas com FP

A redução das enonas simples **39** e também das enonas aromáticas **42** e **45** foi divulgada por Sakai e estão apresentados nos Esquemas 1.17 e 1.18, respectivamente.⁶⁹ No primeiro caso foram obtidas reduções seletivas da ligação dupla carbono-carbono em altos excessos enantioméricos (>98%), produzindo as cetonas saturadas **40** de configuração R



Esquema 1.17. Redução de enonas simples com FP

em rendimentos moderados (22 a 29%). Em menores quantidades (1 a 6%), também foram isolados os álcoois saturados **41**. No caso das enonas aromáticas **42** e **45**, as reduções foram



Esquema 1.18. Redução de enonas aromáticas com FP

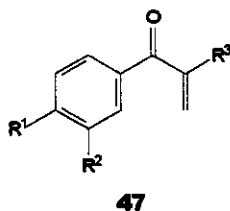
⁷¹ Utaka, M.; Konishi, S.; Takeda, A. *Tetrahedron Lett.* 1986, 27, 4737.

realizadas com FP imobilizado em arginato de sódio. Esta metodologia forneceu uma mistura da cetona saturada **43** (24%, 95% ee) e do álcool **44** (6%). A redução da enona **45** pela mesma metodologia produziu a cetona saturada **46** em bom rendimento, porém com baixo excesso enantiomérico.

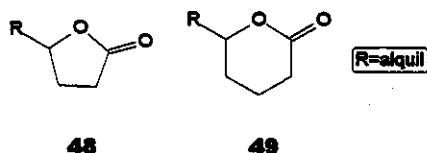
Outros sistemas como β -hidroxicetonas α -metilenados também foram estudados com relação a reatividade e enantiosseletividade frente a FP.⁷²

Recentemente, Servi estudou o uso de resina de absorção na redução de compostos carbonílicos α,β -insaturados com FP.⁷³ A enantio- e quimiosseletividade foram aumentadas por este método, e o favorecimento à obtenção do álcool saturado foi em alguns casos excepcionais.

Porém, até o momento não foi encontrado na literatura, trabalhos desenvolvendo a redução de sistemas como as acrilofenonas **47**, utilizando FP.



A redução de γ - e δ -cetoácido ou ésteres catalisada por FP produz as correspondentes γ - ou δ -lactonas, respectivamente. Para o caso dos ésteres considera-se que o primeiro passo do processo é a hidrólise da função éster por alguma estearase não específica.^{49a} O ácido gerado é por sua vez o substrato para a biorredução.⁷⁴ Várias lactonas como as representadas pelas estruturas **48** e **49**, onde a cadeia carbônica varia entre



1 e 13 carbonos foram obtidos através da redução com FP com excessos enantioméricos geralmente superiores a 98%.⁷⁵

⁷² Utaka, M.; Onove, S.; Takeda, A. *Chem. Lett.* 1987, 971.

⁷³ Servi, S.; Fantoni, G. P.; Fuganti, C.; D'Arrigo, P. *Tetrahedron* 1998, 54, 15017.

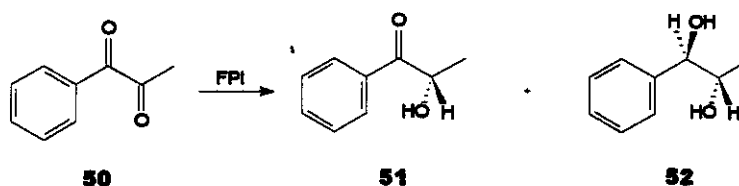
⁷⁴ Manzocchi, A.; Casati, R.; Fiecchi, A.; Santaniello, E. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* 1987, 2753.

⁷⁵ a) Utaka, M.; Watabu, H.; Takeda, A. *J. Org. Chem.* 1987, 52, 4363. b) *Chem. Lett.* 1985, 1475.

As configurações absolutas obtidas nestes casos foram sempre R, porém é importante observar que para o caso onde R=aril, a configuração absoluta a ser obtida, segundo a regra de prioridades de Cahn-Ingold-Prelog, será S.

1.4.5 Atividades do grupo de pesquisa em biocatálise

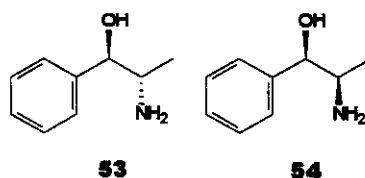
Nosso grupo de pesquisa tem estudado a reatividade de cetonas frente a *Saccharomyces cerevisiae* de FP. A redução de α -haloacetofenonas com FP foi estudada por três procedimentos diferenciados.⁷⁶ As biorreduções forneceram as correspondentes (-)-haloidrinas em boas purezas óticas e rendimentos, exceto para a biorredução da α -iodoacetofenona que produziu acetofenonas e (-)-1-feniletanol. Em outro estudo, foi verificada a imobilização do microorganismo em suportes argilo-minerais e suas atividades na redução de fenilcetonas.^{62a} Os suportes usados foram a montmorilonita K10 e a crisotila, os quais são muito abundantes na região central do Brasil. A redução da fenilcetona **50** ao álcool **51** e do diol **52** com FP imobilizado (FPI) ocorreu em boa estereosseletividade (Esquema 1.19). O biocatalisador suportado foi reutilizado por 8 vezes consecutivas,



Esquema 1.19. Redução de fenil cetona com FP imobilizado

sem alterações acentuadas nas purezas óticas.

Recentemente, a síntese da (-)-(R,S)-norefedrina **53** e (-)-(R,R)-pseudonorefedrina



⁷⁶ Rodrigues, J. A. R.; Moran, P. J. S.; de Carvalho, M.; Okamoto, M. T. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 2073.

54 foi desenvolvida com a utilização da metodologia de imobilização das células de *Saccharomyces cerevisiae*.^{62b} Outras aplicações nesta linha de pesquisa tem sido publicadas.^{48b, 56b} Atualmente, nosso grupo de pesquisa está avaliando a reatividade de várias aril cetonas frente a microorganismos encontrados na Mata Atlântica brasileira.

1.5 Reações de redução catalisadas por Rutênio

As reações catalisadas por metal tem contribuído muito para o recente desenvolvimento de sínteses orgânicas, e uma variedade de métodos sintéticos tem sido divulgado usando principalmente complexos com metais de transição do grupo 8 (Ru, Rh, Pd) em quantidades estequiométricas ou catalíticas.⁷⁷ Até 1980 os métodos sintéticos divulgados usando reagentes de rutênio foram limitados a poucas reações, as quais incluem oxidações com RuO_4 ,⁷⁸ reação de hidrogenação,⁷⁹ e a reação de transferência de hidrogênio.⁸⁰

O progresso na química de coordenação de complexos de rutênio permitiu a preparação de uma grande variedade destes complexos. Frequentemente, $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ é usado como material de partida para estas preparações.⁸¹ Os complexos de rutênio podem ser divididos em 5 grupos de acordo com os seus ligantes: oxo, carbonil, fosfinas terciárias, ciclopentadienílicos e arenos e dienos. Estes ligantes tem provado serem efetivos como fator ativante em abstração de hidrogênio, geração de espécies coordenativamente

⁷⁷ a) Murahashi, S.-I.; Takaya, H.; Naota, T. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 2599. b) *Organometallics in Synthesis*, Sclosser, M., Ed.; John Wiley & Sons: Chichester, **1994**. c) McQuillin, F. J.; Parker, D. G.; Stephenson, G. R. *Transition Metal Organometallics for Organic Synthesis*; Cambridge University Press: Cambridge, **1991**. d) Negishi, E. *Organometallics in Organic Synthesis*; John Wiley & Sons: New York, **1980**.

⁷⁸ Lee, D. G.; van den Engh, M. *Oxidation in Organic Chemistry*, Trahanovsky, W. S., Ed.; Academic Press: New York, **1973**; part B, Chapter 4.

⁷⁹ a) Siegel, S. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*; Paquette, L. A., Ed.; John Wiley & Sons: Chichester, **1996**; vol. 6, 4410. b) Benneti, M. A.; Matheson, T. W. "Comprehensive Organometallic Chemistry", Wilkinson, G.; Stone, F. G. A.; Abel, E. W.; Eds.; Pergamon Press: Oxford, **1982**; vol. 4, p. 931.

⁸⁰ a) James, B. R. *Homogeneous Hydrogenation*; Wiley: New York, **1973**. b) Freifelder, M. *Practical Catalytic Hydrogenation*; Wiley-Interscience: New York, **1971**.

⁸¹ a) Ley, S. V.; Norman, J.; Griffith, W. P.; Marsden, S. P. *Synthesis* **1994**, 639. b) Griffith, W. P.; Ley, S. V. *Aldrichimica Acta* **1990**, *23*, 13. c) Cobbleddick, R. E.; Einstein, F. W. B.; Pomeroy, R. K.; Spetch, E. R. *J. Organomet. Chem.* **1980**, *195*, 77. d) Schwab, P.; France, M. B.; Zilller, J. W.; Grubbs, R. H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2039. e) Schwab, P.; Grubbs, R. H.; Ziller, J. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 100. f) Oshima, N.; Suzuki, H.; Moro-oka, Y. *Chem. Lett.* **1984**, 1161.

insaturadas pela liberação de ligantes, e estabilização de intermediários reativos. Isto tem demonstrado que um preciso controle de sítios de coordenação e sequência redox são importantes para transformações orgânicas específicas, e também que complexos de rutênio tem uma variedade de características úteis como alta habilidade para transferir elétron, alta acidez de Lewis, baixo potencial redox e estabiliza espécies metálicas reativas tais como oxometais, metalciclos e complexos metal carbeno. Desta forma, um grande número de novas reações tem sido desenvolvidas usando quantidades estequiométricas ou catalíticas de complexos de rutênio.

O rutênio é economicamente mais viável que outros metais de transição do grupo 8 (como o paládio e o ródio). A grande influência da química do rutênio em síntese orgânica nos últimos anos tem elevado sua importância ao mesmo nível do paládio.^{77a}

Várias reações orgânicas usando rutênio tem sido desenvolvidas. Estas reações envolvem oxidação,⁸² isomerização,⁸³ formação de ligação C-C,⁸⁴ reações de adições nucleofílicas⁸⁵ e reações de redução. As reações de redução usando rutênio será tratada com detalhes devido a utilização destas metodologias no plano sintético do resíduo amino ácido *N*-terminal de nikkomicinas.

Complexos de rutênio homogêneo ou heterogêneo catalisam hidrogenação de vários substratos incluindo olefinas funcionalizadas, aldeídos, cetonas, outros compostos carbonílicos e nitro compostos.^{79, 80}

As hidrogenações catalisadas por rutênio podem seguir um curso quimio-, regio- ou enantiosseletivo.

⁸² a) Murahashi, S.-I.; Naota, T.; Ito, K.; Maeda, Y.; Taki, H. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4319. b) Blum, Y. Shvo, Y. *J. Organomet. Chem.* **1985**, *282*, C7. c) Tomioka, H.; Takai, K.; Oshima, K.; Nozaki, H. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 1605. d) Ishii, Y.; Ikariya, T.; Saburi, M.; Yoshikawa, S. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 365.

⁸³ a) Ma, D.; Yu, Y.; Lu, X. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1105. b) Li, C.-J.; Wang, D.; Chen, D.-L. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12867. c) Mitsudo, T.; Zhang, S.-W.; Satake, N.; Kondo, T.; Watanabe, Y. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 5533.

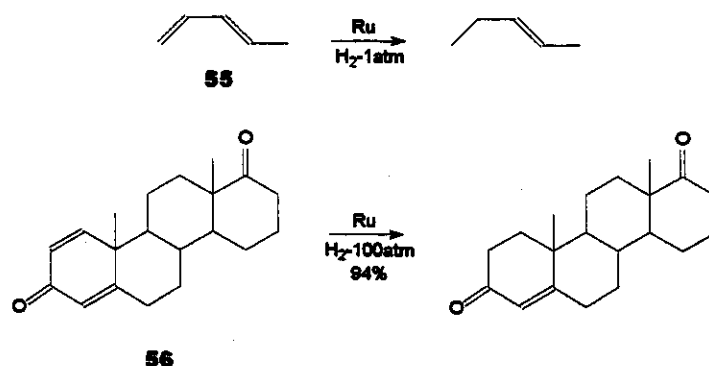
⁸⁴ a) Bianchini, C.; Peruzzini, M.; Zanobini, F.; Frediani, P.; Albinati, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5453. b) Fukuyama, T.; Chatani, N.; Kakiuchi, F.; Murai, S. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 5647. c) Jones, W. D.; Kosar, W.P. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 385.

⁸⁵ a) Doucet, H.; Martin-Vaca, B.; Bruneau, C.; Dixneuf, P. H. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7247. b) Fournier, J.; Bruneau, C.; Dixneuf, P. H.; Lécolier, S. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4456. c) Murahashi, S.-I.; Sasao, S.; Saito, E.; Naota, T. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2521.

1.5.1 Hidrogenações químio e regioseletivas

Comparado a complexos de metais de ródio, irídio e cobalto, os complexos de rutênio geralmente tem menos atividade catalítica para hidrogenação de alquenos simples e funcionalizados.⁸⁶

A reatividade branda de complexos de rutênio é frequentemente usada para hidrogenação quimiosseletiva de olefinas. Dieno conjugado⁸⁷ terminal **55** e compostos esteroidais 3-oxo,1,4-dienos⁸⁸ **56** sofrem hidrogenação seletiva com catalisadores $\text{RuHCl}(\text{PPh}_3)_3$ e $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3$ respectivamente (Esquema 1.20).



Esquema 1.20. Hidrogenações quimiosseletivas com complexos de rutênio

Hidrogenação regioseletiva de hidrocarbonetos aromáticos é importante não só do ponto de vista industrial, mas também como rota em potencial para uma variedade de sistemas de anéis fundidos.^{77a} Conversão do benzeno a ciclohexeno por hidrogenação catalítica é de especial importância no aspecto industrial, pois o método fornece uma nova rota industrial ao ciclohexanol, um importante precursor do nylon. A Asahi Chemical Co. do Japão desenvolveu um sistema catalítico seletivo incluindo rutênio como catalisador.⁸⁹

⁸⁶ a) Chaloner, P. A.; Esteruelas, M. A.; Joó, F.; Oro, L. A. *Homogeneous Hydrogenation*; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, 1994; cap. 4, p. 119. b) Halpern, J.; Harrod, J. F.; James, B. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 5150.

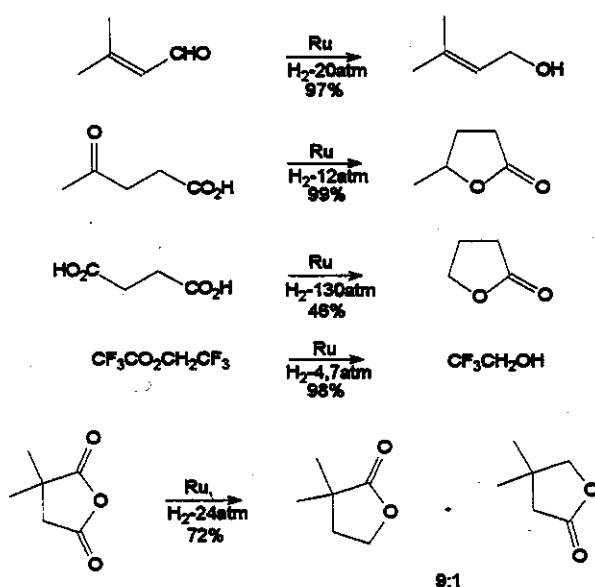
⁸⁷ Hallman, P. S.; Evance, D.; Osborn, J. A.; Wilkinson, G. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1967**, 305.

⁸⁸ Nishimura, S.; Ichino, T.; Akimoto, A.; Tsuneda, K.; Mori, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1975**, *48*, 2852.

⁸⁹ a) Asahi Chemical Co. Jpn. Kokai Tokkyo Koho 62-45541, 62-45544. b) Asahi Chemical Co. Jpn. Kokai Tokkyo Koho 62-205037, 63-15233. c) Asahi Chemical Co. Jpn. Kokai Tokkyo Koho 62-81332, 62-201830, 63-17834, 63-63627.

O processo produz o ciclohexeno com 60% de seletividade após 90% de conversão do benzeno.

Devido a alta afinidade do rutênio frente a compostos com heteroátomos, complexos de rutênio com baixa valência agem como eficientes catalisadores para redução de uma variedade de compostos carbonílicos. Aldeídos,⁹⁰ cetonas,⁹¹ ácidos carboxílicos,⁹² ésteres⁹³ e anidridos⁹⁴ podem ser convertidos aos correspondentes álcoois com vários complexos de rutênio sob pressão de hidrogênio (Esquema 1.21).



Esquema 1.21. Hidrogenações catalíticas de compostos carbonílicos

⁹⁰ Grosselin, J. M.; Mercier, C.; Allmang, G.; Grass, F. *Organometallics* **1991**, *10*, 2126.

⁹¹ Osakada, K.; Ikariya, T.; Yoshikawa, S. *J. Organomet. Chem.* **1982**, *231*, 79.

⁹² Bianchi, M.; Menchi, G.; Francalanci, F.; Piancenti, F.; Matteoli, U.; Frediani, P.; Botteghi, C. *J. Organomet. Chem.* **1980**, *188*, 109.

⁹³ Grey, R. A.; Pez, G. P.; Wallo, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 7536.

⁹⁴ Morand, P.; Kayser, M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1976**, 314.

1.5.2. Hidrogenações enantiosseletivas

Grande progresso tem sido feito em hidrogenações assimétricas com complexos de rutênio com ligante fosfina quiral.⁹⁵ Vários destes complexos podem ter alto reconhecimento facial como divulgado para os casos dos ligantes bis(difenilfosfino) binaftil (BINAP) (R)-57 e (S)-57 (Figura 1.6).⁹⁶ A síntese do complexo BINAP-Ru 40 foi primeiramente desenvolvida por Ikariya.⁹⁷

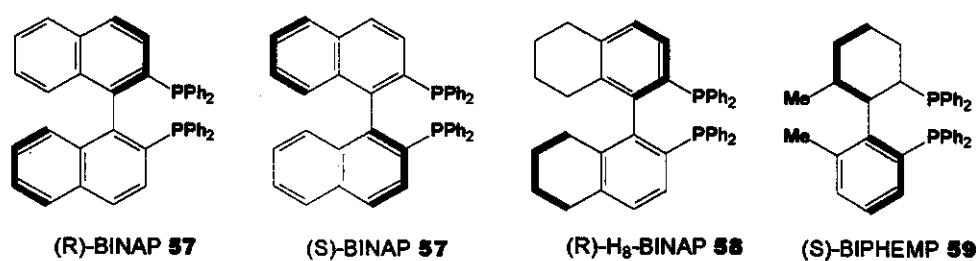
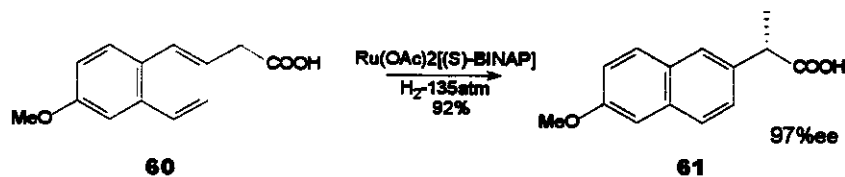


Figura 1.6. Estrutura dos ligantes quirais

O uso do complexo BINAP-Ru **57** em hidrogenações assimétricas tem sido publicado para uma variedade de olefinas pró quirais como o ácido α,β -insaturado **60**.⁹⁸ O método se mostrou muito prático na síntese do anti-inflamatório naproxen **61** (Esquema 1.22).



Esquema 1.22. Síntese do (S)-naproxem

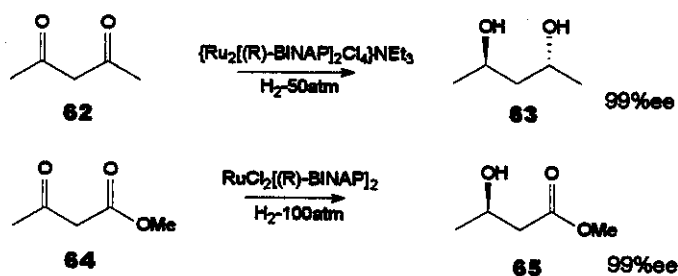
⁹⁵ a) Noyori, R. *Asymmetric Catalysis in Organic Synthesis*; John Wiley & Sons: New York, 1994, cap. 2. b) Takaya, H.; Ohta, T.; Noyori, R. *Catalytic Asymmetric Synthesis*; Ojima, I., Ed.; VCH: Weinheim, 1993, cap. 1.

⁹⁶ a) Ikariya, T.; Ishii, Y.; Kawano, H.; Arai, T.; Saburi, M.; Yoshikawa, S.; Akutagawa, S. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1985**, 922. b) Noyori, R.; Kitamura, M. *Modern Synthetic Methods*, R. Scheffold, Ed., Springer Verlag, **1989**, 128. c) Noyori, R. *Chem. Soc. Rev.* **1989**, *18*, 187. d) Noyori, R.; Takaya, H. *Acc. Chem. Res.* **1990**, *23*, 345.

⁹⁷ Ikariya, T.; Ishii, Y.; Kawano, H.; Arai, T.; Saburi, M.; Yoshikawa, S.; Akutagawa, S. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 922.

⁹⁸ Ohta, T.; Takaya, H.; Kitamura, M.; Nagai, K.; Noyori, R. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 3174.

Uma grande variedade de cetonas funcionalizadas podem ser reduzidas com alta enantiosseletividade usando como catalisador BINAP-Ru. A 1,3-dicetona **62**⁹⁹ e o β-cetoéster **64**¹⁰⁰ podem ser convertidos em condições catalíticas, aos seus correspondentes compostos hidroxi funcionalizados **63** e **65** respectivamente com altas enantiosseletividades (Esquema 1.23).



Esquema 1.23. Síntese enantiosseletiva de compostos hidroxi funcionalizados

A alta enantiosseletividade na hidrogenação catalítica de β-cetoésteres com complexos -BINAP-Ru pode ser racionalizada com os estados de transição **66** e **67**, onde o β-cetoéster age como um ligante σ-doador bidentado (Figura 1.7). A característica quiral do ligante BINAP gera a diferença energética entre as duas formas. O estado de transição **66** que leva ao enantiômero R é mais estável que o **67**, devido ao posicionamento do grupo metila, que não causa interação com o ligante fosfina bidentado.

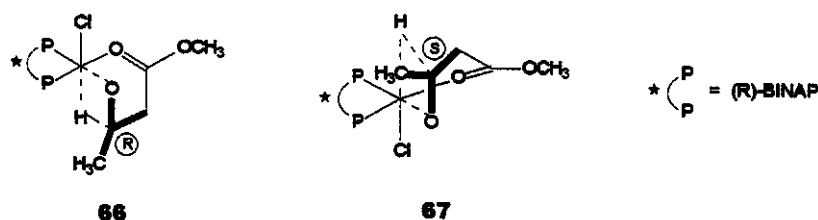


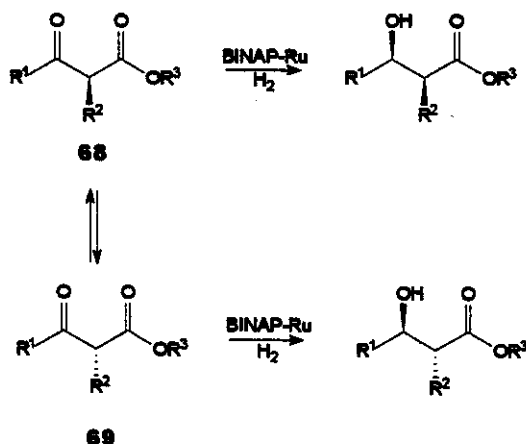
Figura 1.7. Estados de transição na hidrogenação catalítica de β-cetoésteres

Quando β-cetoésteres α-substituídos racêmicos são aplicados como substratos, existe a oportunidade para resolução cinética dinâmica, se sua velocidade de equilibração

⁹⁹ Buser, H.-P.; Spindler, F. *Tetrahedron: Asymm.* 1993, 4, 2451.

¹⁰⁰ Noyori, R.; Ohkuma, T.; Kitamura, M.; Takaya, H.; Sayo, N.; Kumobayashi, H.; Akutagawa, S. *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109, 5856.

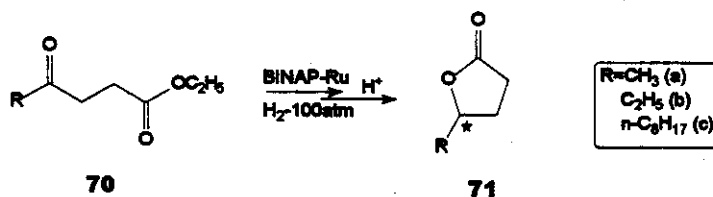
for maior que a da hidrogenação (Figura 1.24).¹⁰¹ Hidrogenação de sistema de equilíbrio 68 e 69 com complexo BINAP-Ru como catalisador procede com altas enantio- e diastereosselatividades.



Esquema 1.24. Resolução cinética dinâmica com BINAP-Ru

O hidroxieéster oticamente ativo *syn* pode ser obtido a partir do correspondente ceto éster acíclico, enquanto que o produto *anti* é formado pela redução do substrato cíclico.^{101a}

Outra aplicação interessante foi a obtenção das γ -lactonas enantiomericamente enriquecidas 71 através de hidrogenação catalítica das cetonas 70 com BINAP-Ru (Esquema 1.25).¹⁰²



Esquema 1.25. Síntese de lactonas quirais

O uso do (S)-BINAP-Ru como catalisador produz as (S) lactonas 71, enquanto que o catalisador R fornece as (R)-lactonas 71 com $ee > 98\%$. As lactonas (R)- 71b e (R)-71c são

¹⁰¹ a) Noyori, R.; Ikeda, T.; Ohkuma, T.; Widhalm, M.; Kitamura, M.; Takaya, H.; Akutagawa, S.; Sayo, N.; Saito, T.; Taketomi, T.; Kumobayashi, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 9134. b) Genét, J. P.; Pinel, C.; Mallart, S.; Juge, S.; Thorimbert, S.; Laffitte, J. A. *Tetrahedron: Asymm.* **1991**, *2*, 555.

feromônios sexuais de besouros,¹⁰³ e a lactona (S)-71a é um intermediário para as sínteses do sulcatol e do geodiamolidio A.¹⁰⁴

1.6 Hidretos de Boro

Desde a descoberta das propriedades redutoras de hidretos de boro, atenção especial ao boroidreto de sódio (NaBH_4) tem sido dedicada, uma vez que ele tem demonstrado ser um agente redutor brando e seletivo do grupo carbonila. Uma grande quantidade de trabalhos foi divulgada mostrando a importância sintética, mecanística ou estereoquímica.¹⁰⁵

A redução de aldeídos e cetonas α,β -insaturados por NaBH_4 leva, em geral, a uma substancial quantia de álcool saturado. Análise da influência da estrutura do substrato na redução com NaBH_4 tem mostrado que aumentando o impedimento estérico da enona, aumenta-se o ataque 1,2.¹⁰⁶

A redução de compostos carbonílicos α,β -insaturados com boroidretos tem sido amplamente aplicada na química de produtos naturais. Um número de cetonas α,β -insaturadas derivadas das gibberellinas foram reduzidas aos álcoois saturados correspondentes por NaBH_4 .¹⁰⁷

Alguns estudos demonstram que a usual seletividade da reação de NaBH_4 pode ser modificada pela adição de vários sais de metais, como alumínio,¹⁰⁸ cobalto,¹⁰⁹ cobre,¹¹⁰ níquel,¹¹¹ estanho,¹¹² titânio¹¹³ e zinco,¹¹⁴ dando reagentes complexos, os quais são capazes

¹⁰² Noyori, R.; Kitamura, M.; Ohkuma, T. *Tetrahedron Lett.* 1990, 31, 5509.

¹⁰³ a) Yarger, R. G.; Silverstein, R. M.; Burkholder, W. E. *J. Chem. Ecol.* 1975, 1, 323. b) Wheeler, J. W.; Happ, G. M.; Araujo, J.; Pasteels, J. M. *Tetrahedron Lett.* 1972, 4635.

¹⁰⁴ a) Mori, K. *Tetrahedron* 1975, 31, 3011. b) White, J. D.; Amedio, J. C.; Jr. *J. Org. Chem.* 1989, 54, 738.

¹⁰⁵ Luche, J.-L.; Gernat, A.L. *J. Am. Chem. Soc.* 1981, 103, 5454.

¹⁰⁶ Johnson, M. R.; Rickborn, B. *J. Org. Chem.* 1970, 35, 1041.

¹⁰⁷ a) Duri, Z. J.; Hanson, J. R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1984, 363. b) Macmillan, J.; Willis, C. L. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1984, 357. c) Voigt, B.; Adam, G. *Tetrahedron* 1983, 39, 449.

¹⁰⁸ Brown, H. C.; Rao, B. C. S. *J. Am. Chem. Soc.* 1956, 78, 2582.

¹⁰⁹ Chung, S. K. *J. Org. Chem.* 1979, 44, 1014.

¹¹⁰ Sorrell, T. N.; Pearlman, P. S. *J. Org. Chem.* 1980, 45, 3449.

¹¹¹ Lin, S. T.; Roth, J. A. *J. Org. Chem.* 1979, 44, 309.

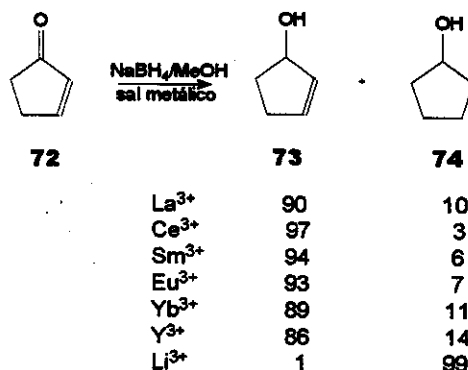
¹¹² Kano, S.; Yuasa, Y.; Shibuya, S. *Chem. Commun.* 1979, 796.

¹¹³ Tanaka, Y.; Hibino, S. *Chem. Commun.* 1980, 415.

¹¹⁴ Yoon, N. M.; Lee, H. J.; Kang, J.; Chung, J. S. *Chem. Abstr.* 1976, 84, 134703.

sinteticamente de reduzir cloretos de acila a aldeídos,¹¹⁰ olefinas a hidrocarbonetos saturados,¹⁰⁹ e desalogenar haletos de arila a arenos.¹¹²

A redução seletiva de α -enonas é de grande interesse, já que este problema é frequentemente encontrado em esquemas sintéticos. Luche¹¹⁵ descreveu sua regiosseletiva conversão ao álcool alílico por NaBH_4 em solução metanólica na presença de lantanídeos, tais como La^{3+} , Ce^{3+} , Sm^{3+} , Eu^{3+} , Yb^{3+} e Y^{3+} . O procedimento conhecido como “protocolo de Luche”, o qual permite a redução 1,2 altamente regiosseletiva, é complementar àqueles que dão predominantemente redução 1,4 com o auxílio de hidrotelureto de sódio¹¹⁶ ou NaBH_4 em piridina.¹¹⁷ A utilidade geral da redução seletiva com $\text{NaBH}_4\text{-CeCl}_3$ é ilustrada pela conversão da ciclopentenona **72** ao ciclopentenol **73** em 97% de rendimento e somente 3% do ciclopentanol **74**,¹⁰⁵ embora a redução do sistema conjugado da ciclopentenona por reagentes mais impedidos é usualmente altamente favorecida (Esquema 1.26).



Esquema 1.26 – Redução de cetonas α , β -insaturadas

Um estudo mecanístico da regra dos cátions lantanídeos sugere que eles catalisam a decomposição do boroidreto pelo solvente hidroxílico fornecendo os alcoxiboroidretos, os quais podem ser responsáveis pela observada regiosseletividade. A estereosseletividade do processo é também modificada pela presença de íons Ln^{3+} , na qual o ataque axial do sistema cicloexonona é aumentado.^{118,115,105}

¹¹⁵ Luche, J.-L. *J. Am. Chem. Soc.* 1978, 100, 2226.

¹¹⁶ Yamashita, M.; Kato, Y.; Suemitsu, R. *Chem. Lett.* 1980, 847.

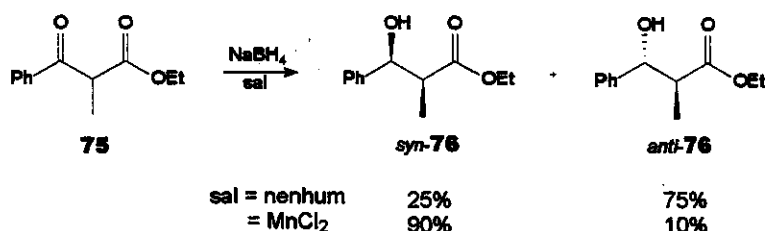
¹¹⁷ Jacson, W. R.; Zurquiyah, A. *J. Chem. Soc.* 1965, 5280.

¹¹⁸ Luche, J.-L.; Gemal, A. L. *J. Am. Chem. Soc.* 1979, 101, 5848.

Kabalka divulgou o uso de NaBH_4 em MeOH/THF como um método conveniente e brando para redução seletiva de muitas enonas aos alcoois alílicos, produzindo altos rendimentos.¹¹⁹

A síntese estereosseletiva de *eritro* ou *treo*-3-hidroxi-2-metil ésteres e amidas é um elegante problema para químicos orgânicos sintéticos já que estas porções aparecem repetidamente em produtos naturais.¹²⁰ Condensação aldólica de vários enolatos tem sido aplicada com sucesso para este propósito.¹²¹ Uma alternativa promissora para este problema é a redução estereosseletiva dos correspondentes 2-metil-3-oxoésteres ou amidas. Redução seletiva com $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$ ¹²² ou $\text{PhMe}_2\text{SiH}/\text{CF}_3\text{COOH}$ ¹²³ tem sido divulgada, dando produtos tipo aldol de configuração *eritro*. Entretanto, trietil-boroidreto de potássio (KBHET_3)¹²⁴ ou $\text{PhMe}_2\text{SiH}/\text{F}^-$ ¹²⁵ provaram ser efetivos para redução direcionada a configuração *treo*. Utimoto¹²⁶ mostrou uma alternativa extremamente simples e efetiva para redução estereosseletiva de 2-metil-3-oxoésteres ou amidas com NaBH_4 , na presença de quantias catalíticas de MnCl_2 , ou com $n\text{-Bu}_4\text{NBH}_4$.

Alguns cloretos foram estudados na redução do β -cetoéster **75** e o mais eficaz na estereosseletividade foi o MnCl_2 (Esquema 1.27).¹²⁶



Esquema 1.27 – Redução de β -cetoésteres

¹¹⁹ Kabalka, G. W.; Varma, R. S. *Synthetic Commun.* **1985**, *15*, 985.

¹²⁰ a) Oishi, T.; Nakata, T. *Acc. Chem. Res.* **1984**, *17*, 338. b) Zwanenburg, B.; Sugimoto, Y.; Wigchert, S. C. M.; Thuring, J. W. J. F. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 1259.

¹²¹ a) Evans, D. A.; Nelson, J. V.; Taber, T. R. *Top. Stereochem.* **1982**, *13*, 1. b) Heathcock, C. H.; Smith, K.; Buse, C. T.; Bal, B. *Org. Synth.* **1985**, *63*, 89.

¹²² Nakata, T.; Oishi, T. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 1641.

¹²³ Fujita, M.; Hiyama, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 8194.

¹²⁴ Ito, Y.; Katsuki, T.; Yamaguchi, M. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 4643.

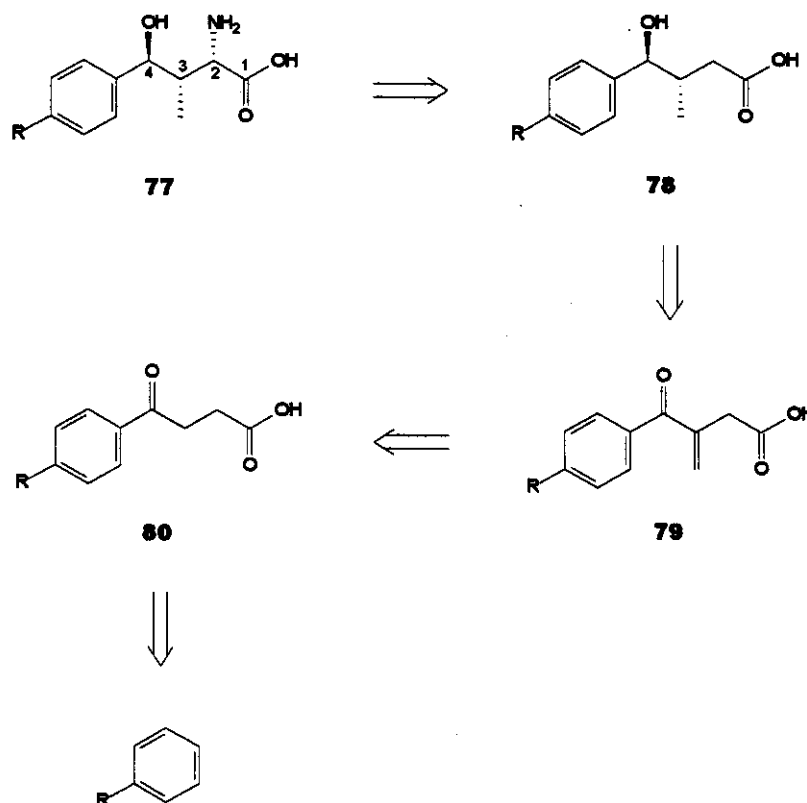
¹²⁵ Fujita, M.; Hiyama, T. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5405.

¹²⁶ Utimoto, K.; Oshima, K.; Fujii, H.; Taniguchi, M. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 11169.

Vários β -cetoésteres foram reduzidos desta maneira, fornecendo os produtos *eritro* e *treo* em proporções variadas. O β -cetoéster **75** foi submetido a várias condições reacionais com $n\text{-Bu}_4\text{NBH}_4$ e, o melhor resultado produziu o 3-hidroxi-2-metil éster *anti*-**76** preferencialmente em uma proporção diastereoisomérica de 93:7. Os resultados obtidos podem ser racionalizados pelo modelo de Felkin-Anh e serão discutidos posteriormente no item 3.6.

2 - OBJETIVOS

O objetivo do projeto de pesquisa é o desenvolvimento de uma rota de síntese estereoespecífica para a obtenção do resíduo aminoácido *N*-terminal de nikkomicinas 77. A estratégia sintética proposta para esse fim está mostrada no Esquema 2.1.



Esquema 2.1. Análise retrossintética

As etapas chave nesta rota são: (i) a criação do centro estereogênico em C-4 com a utilização da metodologia de redução assimétrica de compostos carbonílicos com *Saccharomyces cerevisiae* desenvolvida por nosso grupo de pesquisa^{48b,56b,62,76} e (ii) a redução assimétrica da ligação dupla carbono-carbono também com *Saccharomyces cerevisiae* para criação do centro estereogênico em C-3. Nas duas etapas serão usados fermento de pão imobilizado em montmorilonita K10, ou mesmo na sua forma livre para a obtenção do álcool saturado 78. Reduções biocatalisadas de múltiplas funções em uma mesma molécula ainda é pouco explorado. O grupo amino em 77 poderá ser introduzido através do grupo azida segundo uma reação de transferência eletrofílica de azida (azidação)

pelo método desenvolvido por Evans.¹²⁷ Excelente estereodiferenciação e rendimento são esperados na obtenção de 77.

A vinilcetona 79 será obtida através de tratamento do ácido benzoilpropiónico 80 com formaldeído em meio alcalino,³⁰ sendo que o ácido benzoilpropiónico 80 poderá ser obtido através da acilação de Friedel-Crafts do benzeno.¹²⁸

Uma alternativa para o emprego do *Saccharomyces cerevisiae* é a hidrogenação catalítica da vinilcetona 79. Espera-se encontrar um catalisador, complexo de rutênio, que faça tanto a redução da cetona como da ligação dupla.¹²⁹ Tendo sucesso nessa hidrogenação racêmica, tentaremos adicionar um ligante quiral ao metal para obtermos uma diastereodiferenciação do produto. É relevante mencionar que esses catalisadores em geral reduzem também grupo azido, e portanto poderemos, em princípio, reduzir as três funções pelo mesmo método.

¹²⁷ Evans, D. A. ; Britton, T. C.; Ellman, J. A.; Dorow, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 4011.

¹²⁸ Fieser and Hershberg *J. Am. Chem. Soc.* 1936, 58, 2314.

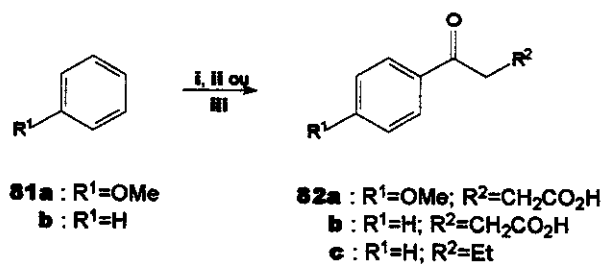
¹²⁹ Noyori, R. *Asymmetric Catalysis in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, New York, 1994.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Acilação de Friedel-Crafts

A estratégia de síntese adotada para a obtenção do esqueleto do componente aminoácido *N*-terminal de nikkomicinas foi a preparação das aril cetonas **82a** e **82b**, uma vez que o fenol mostrou toxicidade ao microorganismo *Saccharomyces cerevisiae*, que será utilizado nas etapas posteriores.

Obteve-se as arilcetonas **82b** e **82c** através da acilação de Friedel-Crafts do benzeno com anidrido succínico e butírico, respectivamente, em atmosfera inerte.¹³⁰ A acilação de Friedel-Crafts do anisol para a obtenção do γ -cetoácido **82a** foi otimizada usando o procedimento descrito por Fieser e Hershberg¹³¹ (Esquema 3.1). A substituição eletrofílica



- i) anidrido succínico, nitrobenzeno/tetracloreto 20/80, AlCl₃, Ar, 3°C
 ii) anidrido succínico, benzeno, AlCl₃, Ar, 25°C, refluxo.
 iii) anidrido butírico, benzeno, AlCl₃, Ar, 25°C, refluxo.

Esquema 3.1. Preparação das arilcetonas, 82a-c

aromática direcionada para as posições *orto* e *para* com o substituinte metóxi no anel, provoca um aumento na velocidade de reação frente a eletrófilo quando comparado com o benzeno. Isto ocorre devido a doação de elétrons do oxigênio do substituinte metóxi ao anel. O cloreto de alumínio usado como catalisador, que foi sublimado previamente, reage com o anidrido succínico ou butírico gerando o íon acílio que age como eletrófilo fornecendo o íon arênio.

As arilcetonas **82b** e **82c** foram purificadas através de cromatografia em coluna, eluindo-se com sistema de solventes acetato de etila:hexano (20:80). O γ -cetoácido **82a** foi

¹³⁰ Vogel, A. I. *Textbook of Practical Organic Chemistry*, 4th Ed, Longman, London, 1979, p. 774.

¹³¹ Fieser, L. F.; Hershberg, E. B. *J. Am. Chem. Soc.* 1936, 58, 2314.

purificado através de recristalização, e em todas as acilações obteve-se bons rendimentos (Tabela 3.1).

Tabela 3.1. Preparação das arilcetonas, 82a-c (Esquema 3.1)

Entrada	Substrato	R ¹	R ²	Condições	Produto	Rend. (%) ^a
1	81a	Ome	CH ₂ COOH	i	82a	72
2	81b	H	CH ₂ COOH	ii	82b	81
3	81b	H	Et	iii	82c	79

^a Rendimento isolado após purificação por cromatografia em coluna.

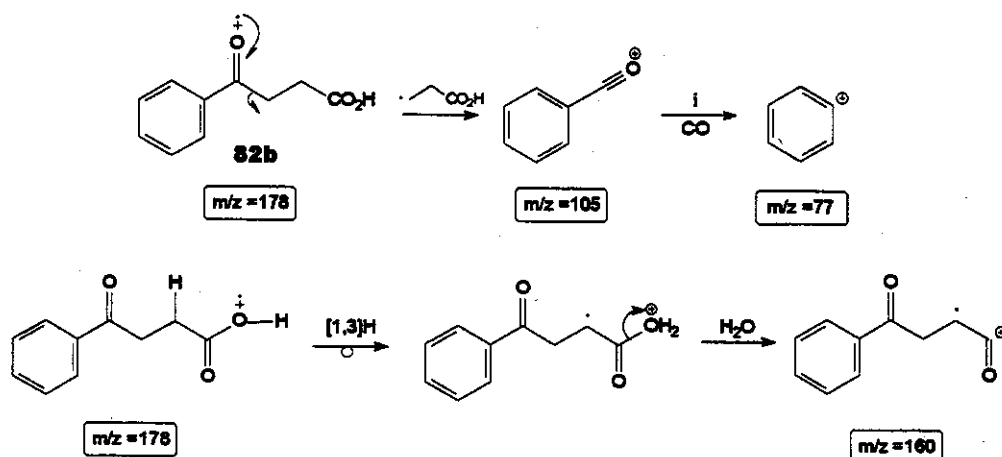
O γ -cetoácido **82a** foi obtido em menor rendimento devido a utilização de quantidades molares do composto aromático ser bem inferior aos outros casos, onde o benzeno além de reagente também trabalhou como solvente da reação. Além disto, a mistura de solventes nitrobenzeno/tetracloroetano (Tabela 3.1, entrada 1) dificultou a operação de purificação do γ -cetoácido **82a**.

As arilcetonas **82a-c** foram identificados através dos espectros na região do infra-vermelho, de massas e de ressonância magnética nuclear de prótons, além do ponto de fusão quando aplicável. Escolheu-se a arilcetona **82b** como exemplo representativo desta etapa para discussão dos dados espectroscópicos obtidos.

O espectro na região de infra-vermelho da arilcetona **82b** (Espectro 04) mostrou a presença de uma banda entre 3050 e 2600 cm⁻¹, atribuída a deformação axial da ligação O-H do grupo ácido carboxílico e uma banda em 2923 cm⁻¹ referente a deformação axial da ligação C-H. Também foram observadas uma banda forte em 1682 cm⁻¹, característica da deformação axial do grupo carbonila, conjugado com o grupo fenila, e uma banda forte em 1596 cm⁻¹, relativa a deformação axial das ligações duplas C=C do anel aromático. A banda em 1402 cm⁻¹ foi atribuída a deformação angular simétrica da ligação C-H.

No espectro de massas da arilcetona **82b** (Espectro 05), observou-se a presença do íon molecular em m/z=178. O pico base em m/z=105 foi atribuído ao íon acílio proveniente da fragmentação do íon molecular (Esquema 3.2). A fragmentação do íon acílio, característico de cetonas, forneceu o cátion fenila em m/z=77. O pico em m/z=160, embora

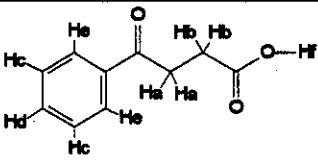
pouco intenso, foi atribuído ao cátion radicalar proveniente do rearranjo de hidrogênio do íon molecular seguido de perda neutra de água.



Esquema 3.2. Fragmentação da arilcetona 82b

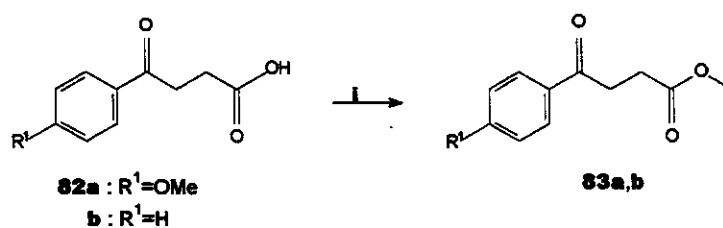
No espectro de ressonância magnética nuclear de prótons a 300 MHz da arilcetona 82b (Espectro 06), observou-se dois tripletos com constantes de acoplamento igual a 6,6 Hz, centrados em 2,82 e 3,32 ppm (Tabela 3.2). O tripleto em campo mais baixo foi decorrente da ressonância dos prótons H_b vizinhos ao grupo COOH_f , enquanto que o outro tripleto, em campo mais alto, foi atribuído aos prótons H_a . Na parte do espectro referente aos prótons aromáticos foram observados dois tripletos e um dubleto. O próton H_c , acoplado aos prótons H_d e H_e deu origem ao tripleto em 7,47 ppm, enquanto que o próton H_d , acoplado aos prótons H_c e H_e produziu o outro tripleto em 7,49 ppm. O dubleto em 7,97 ppm foi atribuído ao próton H_e , acoplado ao próton H_c . O sinal referente ao próton do grupo COOH (H_f) não foi encontrado até a região de $\delta=10$ ppm.

Tabela 3.2. Atribuição de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) para a arilcetona 82b

			
Hidrogênio	Mult.	δ (ppm)	J (Hertz)
H _a	t	2,82	³ J=6,6
H _b	t	3,32	³ J=6,6
H _c	t	7,47	³ J=7,1
H _d	t	7,58	³ J=7,4
H _e	d	7,98	³ J=7,1
H _f	---	---	---

3.2 Metilação

A função ácido das arilcetonas 82a e 82b pode ser indesejada para as etapas de biotransformações posteriores, no sentido de toxicidade do ácido ao *Saccharomyces cerevisiae*. Desta forma, esta função foi esterificada através de metilação com diazometano e obteve-se rendimentos quantitativos dos γ-cetoésteres nesta etapa (Esquema 3.3).



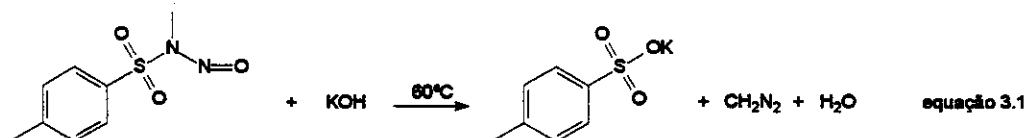
1) (CH₃CH₂)₂O, CH₂N₂, 0°C, R=97%.

Esquema 3.3. Preparação dos γ-cetoésteres, 83a-b

O mecanismo da metilação envolve 2 etapas. A primeira reação é uma simples transferência do próton do ácido carboxílico para o átomo de carbono básico do diazometano. Na segunda reação, o par de íons formado reage imediatamente pelo

mecanismo S_N2 , com o íon carboxilato entrando como nucleófilo e o nitrogênio como grupo de saída.

O diazometano foi preparado através da reação entre o *para N*-metil-*C*-*N*-nitroso-*para*-tolueno sulfonamida (DIAZALD) com hidróxido de potássio em éter a 60°C (equação 3.1)¹³² e utilizado logo em seguida.



O γ -cetoéster **83a** apresenta-se na forma de cristais brancos com ponto de fusão 43,5-44,8°C (43-44°C¹³³), enquanto que o γ -céto éster **83b** é um líquido amarelo claro, ambos estáveis a temperatura ambiente.

Os γ -cetoésteres **83a-b** foram identificados através dos espectros na região do infra-vermelho, de massas e de ressonância magnética nuclear de prótons, além do ponto de fusão quando aplicável. Escolheu-se o γ -cetoéster **83b** como exemplo representativo desta etapa para discussão dos dados espectroscópicos obtidos.

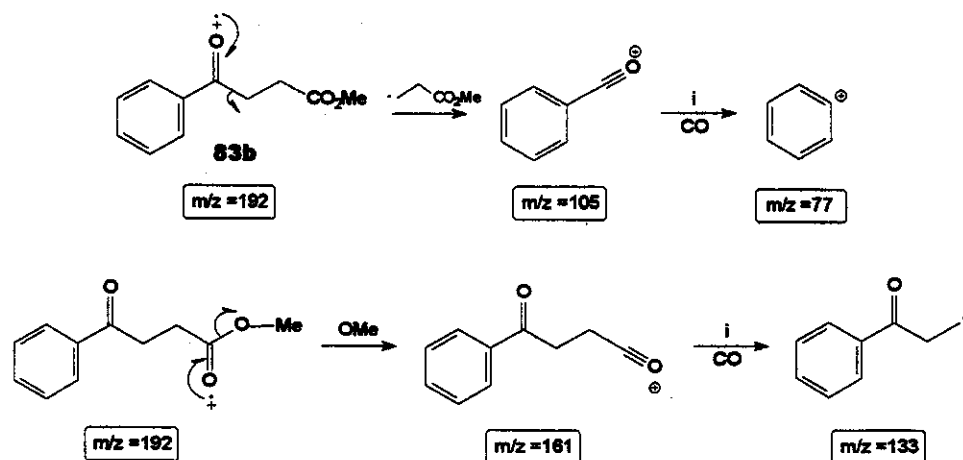
O espectro na região de infra-vermelho do γ -cetoéster **83b** (Espectro 14) conforme previsto, não mostrou a banda entre 3050 e 2600 cm^{-1} , característica da deformação axial da ligação O-H do grupo ácido carboxílico. A banda em 2954 cm^{-1} foi atribuída a deformação axial da ligação C-H. Foram observadas uma banda forte em 1687 cm^{-1} , característica da deformação axial do grupo carbonila de cetona conjugado com o grupo fenila, uma banda forte em 1738 cm^{-1} , referente a deformação do grupo carbonila do éster e uma banda fraca em 1597 cm^{-1} , atribuída a deformação axial das ligações duplas C=C do anel aromático. A banda em 1449 cm^{-1} foi atribuída a deformação angular da ligação C-H. As bandas fortes em 1221 e 1167 cm^{-1} foram atribuídas a deformações axiais das ligações C-C(=O)-O do grupo éster.

No espectro de massas do γ -cetoéster **83b** (Espectro 15), observou-se a presença do íon molecular em $m/z=192$. O pico base em $m/z=105$ foi atribuído ao íon acílio proveniente da fragmentação do íon molecular (Esquema 3.4). A fragmentação do íon acílio,

¹³² Vogel, A. *Textbook of Practical Organic Chemistry*, 4th Ed, Longman, London, 1979, p. 291.

¹³³ Kasturi, T. R.; Thomas, M. *Indian J. Chem.* 1972, 10, 777.

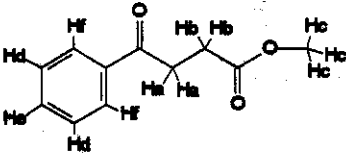
característico de cetonas, forneceu o cátion fenila em $m/z=77$. O pico em $m/z=161$, foi atribuído a fragmentação do íon molecular com perda do radical metoxila produzindo o íon acílio. Este sofreu clivagem indutiva fornecendo o cátion em $m/z=133$.



Esquema 3.4. Fragmentação do γ -cetoéster 83b

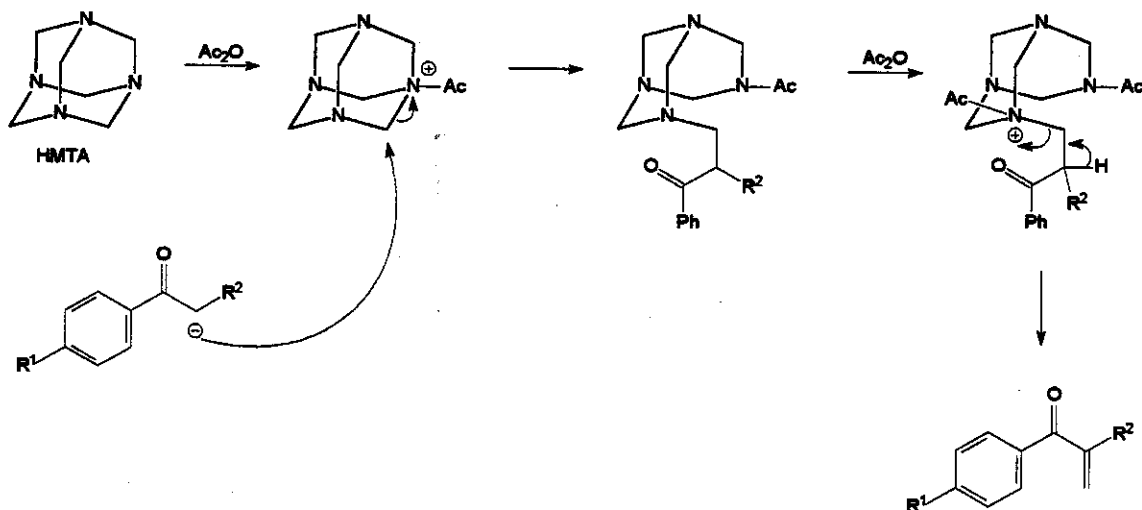
No espectro de ressonância magnética nuclear de prótons a 300 MHz do γ -cetoéster 83b (Espectro 16), observou-se dois tripletos com constantes de acoplamento igual a 6,6 Hz, centrados em 2,77 e 3,32 ppm (Tabela 3.3). O tripleto em campo mais baixo foi decorrente da ressonância dos prótons H_b , vizinhos ao grupo COOMe , enquanto que o outro tripleto, em campo mais alto, foi atribuído aos prótons H_a . Os prótons do grupo COOCH_3 (H_c) deram origem ao singlete em 3,71 ppm. Na parte do espectro referente aos prótons aromáticos foram observados dois tripletos e um dubleto. O próton H_d , acoplado aos prótons H_e e H_f deu origem ao tripleto em 7,47 ppm, enquanto que o próton H_e , acoplado aos prótons H_d e H_f produziu o outro tripleto em 7,57 ppm. O dubleto em 7,98 ppm foi atribuído ao próton H_f , acoplado ao próton H_d .

Tabela 3.3. Atribuição de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) para o γ -cetoéster 83b

			
Hidrogênio	Mult.	δ (ppm)	J (Hertz)
H _a	t	2,77	$^3J=6,6$
H _b	t	3,32	$^3J=6,6$
H _c	s	3,71	-
H _d	t	7,47	$^3J=7,1$
H _e	t	7,57	$^3J=7,4$
H _f	d	7,98	$^3J=7,1$

3.3 Metilenação

Algumas rotas sintéticas alternativas foram empregadas para obtenção dos derivados de acrilofenona 84a-e (Esquema 3.6). Para promover a α -metilenação de 83a, utilizou-se inicialmente hexametenotetramina (HMTA) em anidrido acético como agente de metilenação³⁴ (Esquema 3.6, método i). A ativação do HMTA com anidrido acético seguido por ataque nucleofílico do ânion enolato, produz um intermediário β -aminocetona. Este intermediário, na presença de anidrido acético, através de uma eliminação de Hoffmann, produz o derivado de acrilofenona 84a (Esquema 3.5).



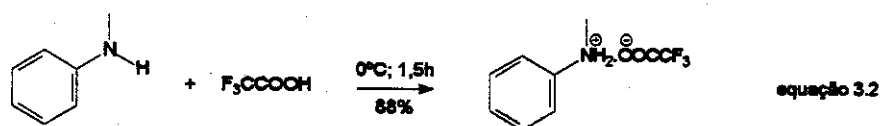
Esquema 3.5. Mecanismo de adição da dupla metilênica a α -carbonila com HMTA

Esta metodologia foi objeto de bastante estudo, usando-se como substrato o γ -cetoéster **83a**, apresentando entretanto resultados insatisfatórios. Obteve-se uma mistura de 3 compostos em proporções diferenciadas e em alguns casos, pôde-se observar a presença do material de partida **83a**. Dois compostos desta mistura, separados por cromatografia em coluna, foram analisados por RMN¹H e CG/EM. O composto em maior proporção foi identificado como sendo o derivado de acrilofenona **84a** (37%), e o de menor proporção não foi possível ser identificado.

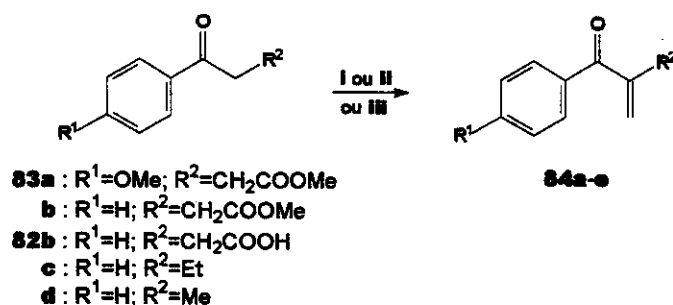
Com os problemas de obtenção de misturas e do baixo rendimento isolado de **84a**, um substrato modelo passou a ser usado nas investigações com o objetivo de obter-se mais dados. Usando-se a propiofenona **83d**, foi obtida uma mistura da acrilofenona **84d** como produto predominante e da arilcetona. Todos os experimentos realizados forneceram misturas de difícil separação, seja ele com maior ou menor tempo de reação. A reação também foi conduzida a temperatura ambiente e não observou-se a produção da acrilofenona **84d**, sendo que o material de partida pôde ser recuperado integralmente. Adicionalmente, tentou-se introduzir um solvente tal como dioxano anidro na reação, pois o procedimento original não empregava solvente e isto poderia ser um fator negativo para a obtenção do produto final. Porém, esta modificação não mudou muito o quadro anterior.

Alternativamente, testou-se a adição do grupo α -metilênico a **83a** ou **83d** através do uso do sal altamente impedido, trifluoroacetato de *N*-metilanilínio (TAMA)³² (Esquema

3.6, método ii). O TAMA foi preparado através da adição de *N*-metilanilina ao ácido trifluoroacético com temperatura controlada em 0°C (equação 3.2). O sólido branco



cristalino obtido foi usado na reação empregando-se uma modificação do método original, trocando-se o trioximetileno por paraformaldeído. Solventes apróticos polares como o THF e dioxano foram utilizados. Com THF não houve conversão e recuperou-se totalmente o γ -cetoéster **83a**. Usando-se dioxano observou-se, através de CG/EM, total consumo do γ -cetoéster **83a**, e formação parcial do derivado de acrilofenona **84a**. Entretanto, não foi possível realizar a purificação do derivado de acrilofenona **84a**, provavelmente pela formação de polímeros. Encontrou-se situações semelhantes quando utilizou-se o derivado de acrilofenona **83d** como substrato. Acredita-se que o insucesso desta reação esteja diretamente relacionado à troca de trioximetileno por paraformaldeído no método original.



I) HMTA 1,4 eq., Ac_2O anidro 1,8 eq., refl., 6h.

II) TAMA 1,1 a 2,5 eq., paraformaldeído 1,5 a 3,0 eq., THF ou dioxano anidro, refl., 20

III) morfolina 0,5 eq., HCHO 37%, HOAc glacial, refl., 5h.

Esquema 3.6. Preparação dos derivados de acrilofenona, **84a-e**

Adicionalmente, foi estudado uma terceira rota de síntese, a qual foi desenvolvida por Kim.³⁵ (Esquema 3.6, método iii). Realizou-se o tratamento das arilcetonas **82b-d** ou dos γ -cetoésteres **83a-b** com uma solução aquosa de formaldeído na presença de quantidades catalíticas de uma amina secundária, no caso morfolina, refluxando-a com ácido acético glacial. A α -metilenação foi conduzida em meio ácido com sucesso e após purificação por cromatografia em coluna, eluindo-se com sistema de solventes acetato de

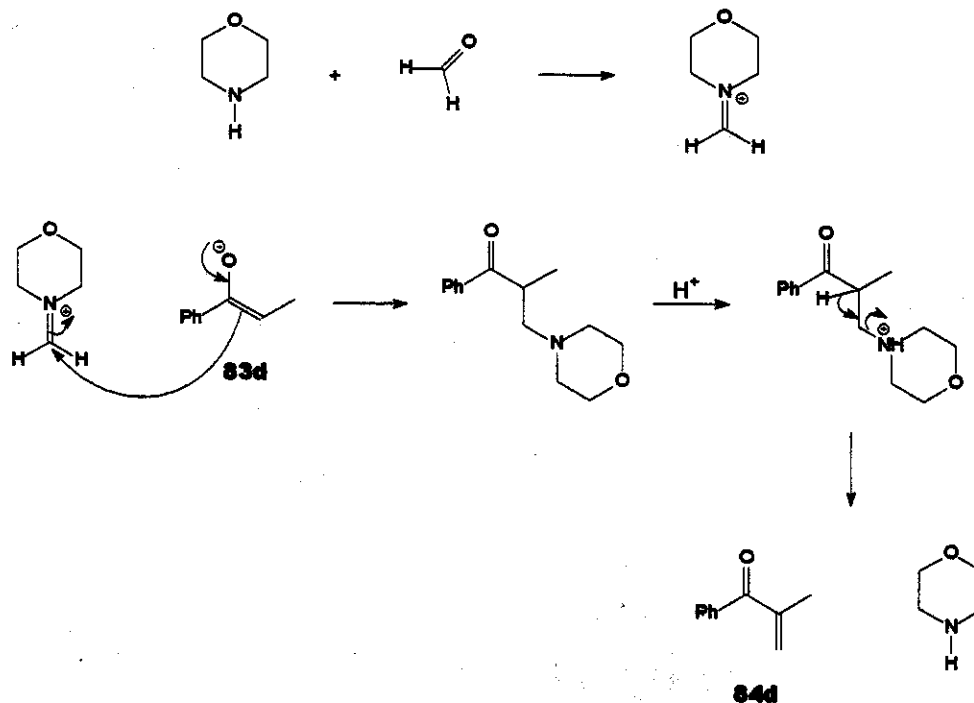
etila:hexano (5:95) obteve-se os derivados de acrilofenona **84a-e** em bons rendimentos (Tabela 3.4).

Tabela 3.4. Preparação dos derivados de acrilofenona, **84a-e (Esquema 3.6, método iii)**

Entrada	Substrato	R ¹	R ²	Produto	Rend. (%) ^a
1	83a	OMe	CH ₂ COOMe	84a	71
2	83b	H	CH ₂ COOMe	84b	91
3	82c	H	Et	84c	76
4	82d	H	Me	84d	71
5	82b	H	CH ₂ COOH	84e	62

^a Rendimento isolado após purificação por cromatografia em coluna.

A reação envolve a formação clássica da base de Mannich (Esquema 3.7). Esta sofre protonação e espontânea β -desaminação levando à α -metilenocetona.

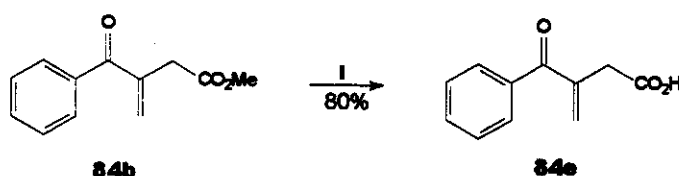


Esquema 3.7. Mecanismo de adição de dupla metilênica a α -carbonila com morfolina

Desta forma, foi encontrado um método adequado para a inserção do grupo α -metilênico a carbonila de arilcetonas. Neste procedimento não foi obtido a formação de sub-produtos, nem produtos polimerizados ou difíceis de serem separados.

A principal vantagem deste método, quando comparado à metodologia desenvolvida por Eschenmoser,^{25, 26} a qual utiliza o íon imínio pré-formado, é o baixo custo dos reagentes envolvidos.

Alternativamente, o derivado de acrilofenona **84e** foi preparada em bom rendimento através de hidrólise de outro derivado de acrilofenona **84b** (Esquema 3.8).



I) LiOH Seq., THF:água (1:1), ta, 7h.

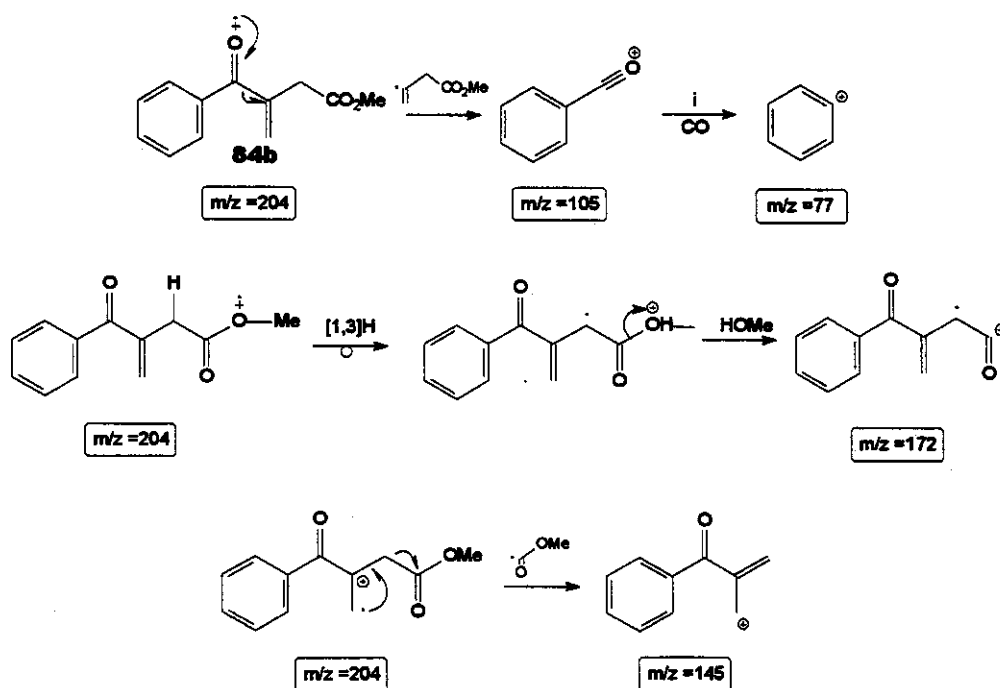
Esquema 3.8. Preparação do derivado de acrilofenona, **84e**

Os derivados de acrilofenona foram identificados através dos espectros na região do infra-vermelho, de massas e de ressonância magnética nuclear de prótons. Como exemplo representativo desta etapa para discussão dos dados espectroscópicos obtidos, escolheu-se a acrilofenona **84b**.

O espectro na região de infra-vermelho do derivado de acrilofenona **84b** (Espectro 22), mostrou a presença de uma banda em 1687 cm⁻¹, característica da deformação axial do grupo carbonila de cetona conjugado com o grupo fenila, e uma banda forte em 1740 cm⁻¹, referente a deformação axial do grupo carbonila do éster. Observou-se também duas bandas fracas em 1659 e 1599 cm⁻¹ referentes a deformação axial da ligação C=C terminal e aromática respectivamente. A banda em 1449 cm⁻¹ foi atribuída a deformação angular da ligação C-H. As bandas fortes em 1203 e 1171 cm⁻¹ foram atribuídas a deformações axiais das ligações C-C(=O)-O do grupo éster.

No espectro de massas do derivado de acrilofenona **84b** (Espectro 23), pode ser observada a presença do íon molecular em m/z=204. O pico base em m/z=105 foi atribuído ao íon acílio proveniente da clivagem do íon molecular (Esquema 3.9). A clivagem indutiva

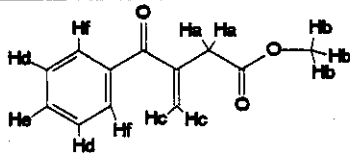
do íon acílio, característico de cetonas, forneceu o cátion fenila em $m/z=77$ com perda neutra de CO. O pico em $m/z=172$, foi atribuído ao cátion radicalar proveniente do rearranjo [1,3] de hidrogênio do íon molecular seguindo de perda neutra de HOMe. O pico em $m/z=145$ foi atribuído a fragmentação do íon molecular.



Esquema 3.9. Fragmentação do derivado de acrilfenona 84b

No espectro de ressonância magnética nuclear de prótons a 300 MHz do derivado de acrilfenona **84b** (Espectro 24), observou-se dois singletos em 3,56 e 3,69 ppm (Tabela 3.5). O singlete em campo mais baixo foi atribuído aos prótons do grupo metoxila H_b , enquanto que o outro singlete, em campo mais alto, foi atribuído aos prótons H_d . Observou-se outros dois singletos em 5,79 e 6,00 ppm, atribuídos aos prótons H_c . Os valores observados para H_c estão de acordo com os valores publicados por Cignarella.³⁰ Na porção do espectro referente aos prótons aromáticos, foram observados dois tripletos e um dubleto. O próton H_d , acoplado aos prótons H_e e H_f deu origem ao triplete em 7,45 ppm, enquanto que o próton H_e , acoplado aos prótons H_d e H_f produziu o outro triplete em 7,53 ppm. O dubleto em 7,79 ppm foi atribuído ao próton H_g , acoplado ao próton H_d .

Tabela 3.5. Atribuição de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) para o derivado de acrilofenona 84b

			
Hidrogênio	Mult.	δ (ppm)	J (Hertz)
H _a	s	3,56	-
H _b	s	3,69	-
H _c	s	5,79	-
H _c	s	6,00	-
H _d	t	7,45	³ J=7,3
H _e	t	7,53	³ J=7,3
H _f	d	7,79	³ J=7,0

No espectro de RMN¹³C a 75 MHz do derivado de acrilofenona **84b** (Espectro 25), observou-se a presença de 15 sinais (Tabela 3.6). Os picos em 37,83 e 128,87 ppm foram originados através de ressonâncias de carbonos metilênicos, pois aparecem com valores negativos no espectro de RMN¹³C-DEPT, Espectro 26, e foram atribuídos aos carbonos C₁ e C₅ respectivamente. A ressonância em 52,02 ppm foi decorrente do carbono metóxi, com sinal positivo, e foi atribuída ao carbono C₂. As ressonâncias em 128,19; 129,65 e 132,32 ppm foram decorrentes de carbonos metínicos, conforme observado através dos sinais positivos e foram atribuídos aos carbonos C₃ e 4, C₆ e 7 e C₈ respectivamente. Os picos observados em 137,19; 141,19; 171,41 e 196,95 ppm foram provenientes de carbonos de multiplicidade C₀, uma vez que não foram observados no espectro de RMN¹³C-DEPT, e atribuídos aos carbonos C₉, C₁₀, C₁₁ e C₁₂ respectivamente.

Tabela 3.6. Atribuição de RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃) para o derivado de acrilofenona 84b

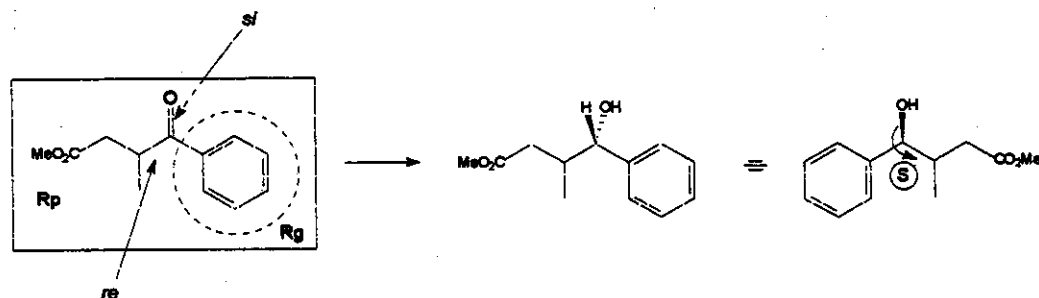
Carbono	δ (ppm)	DEPT	Carbono	δ (ppm)	DEPT
C ₁	37,83	-	C ₈	132,32	+
C ₂	52,02	+	C ₉	137,19	Não obs.
C ₃ , C ₄	128,19	+	C ₁₀	141,18	Não obs.
C ₅	128,87	-	C ₁₁	171,41	Não obs.
C _{6 e 7}	129,65	+	C ₁₂	196,99	Não obs.

3.4 Reações de Redução Biocatalisadas

Nesta etapa do projeto de pesquisa utilizou-se o microorganismo *Saccharomyces cerevisiae*, visando a redução das duas funções (carbonila e ligação dupla C=C). O microorganismo foi utilizado como encontrado no fermento de pão (FP). Esta é a etapa-chave da rota de síntese proposta para o bloco quiral, devido a formação estereoespecífica dos centros quirais em C-3 e C-4 da acrilofenona 84a. O *Saccharomyces cerevisiae* é o microorganismo mais utilizado em biotransformações envolvendo óxido-redução,^{47, 49} entretanto, reduções biocatalisadas de múltiplas funções em uma mesma molécula ainda é pouco explorado. Fungos e bactérias também foram estudados como biocatalisadores destas reduções.

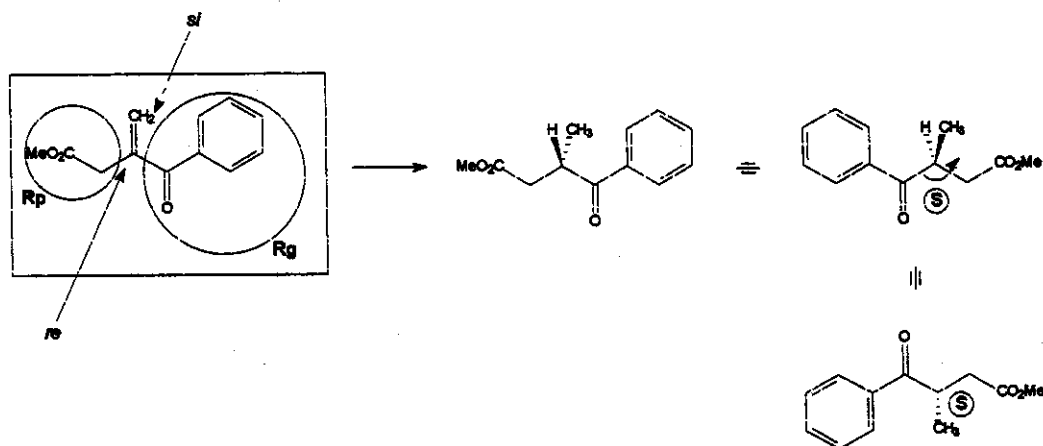
3.4.1 Biorreduções com *Saccharomyces cerevisiae*

Segundo a regra de Prelog⁵⁹ para biotransformação de compostos carbonílicos, a configuração a ser obtida para o carbono C-4 do derivado de acrilofenona 84a será S. A enzima *Álcool desidrogenase* transfere o hidreto pela face *re* da carbonila, Esquema 3.10, onde R_p é um substituinte pequeno e R_g é um substituinte grande.



Esquema 3.10. Mecanismo de transferência de hidreto para carbonila

Considerando que a primeira biorredução ocorra pelo mesmo mecanismo, a configuração a ser obtida para o carbono C-3 da acrilofenona **84a** também será S (Esquema 3.11). A enzima envolvida neste processo é a *Redutase ligação dupla carbono-carbono*.



Esquema 3.11. Mecanismo de transferência de hidreto para a ligação dupla carbono-carbono

Estudos utilizando-se o complexo multi-enzimático *Saccharomyces cerevisiae* na forma livre ou imobilizado (FPI), suportado em montmorilonita K10, indicaram este último como o mais eficiente na obtenção dos produtos finais. A imobilização do *Saccharomyces cerevisiae* ocorre por adsorção em um suporte inerte, conferindo maior estabilidade operacional ao microorganismo, possibilitando sua reutilização, além de diminuir os tempos de reação e facilitar o isolamento dos produtos.⁶² Os argilominerais como a crisotila e montmorilonita são bastante utilizados como suporte, pois oferecem uma

grande área superficial permitindo a troca de cátions e são uma fonte rica de nutrientes minerais para as células microbianas.⁶²

Conduziu-se várias reações biocatalisadas com o objetivo de estudar a estereoquímica dos dois centros pró-quirais em C-3 e C-4 da acrilofenona **84a**. Obteve-se uma mistura da cetona **85**, do álcool **86** e em alguns casos, recuperou-se a acrilofenona **84** de partida (Esquema 3.12).

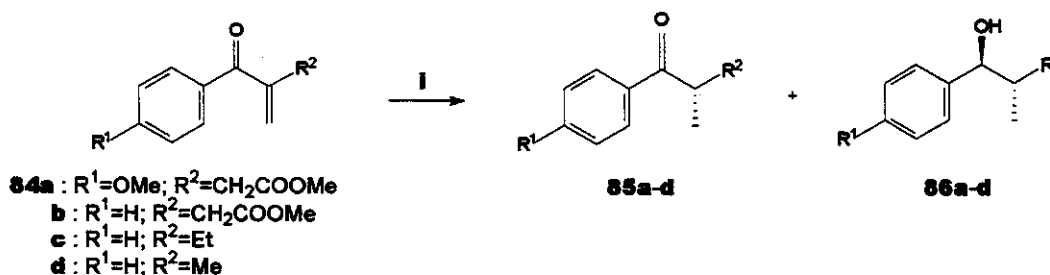
As configurações dos centros estereogênicos indicadas no Esquema 3.12 seguem a regra de Prelog.⁵⁹ Quando o substituinte R² é uma metila, a acrilofenona **84d** tem apenas um carbono pró-quiral.

Com o método A estudou-se variáveis como: temperatura, proporção substrato:FPI e tempo de reação. Com pequena proporção de FPI:substrato (6g:1mmol) e pouco tempo de reação, partindo de **84c** e **84d** obteve-se quase que exclusivamente as cetonas **85c** e **85d** respectivamente. Com o aumento do tempo e da proporção FPI:substrato (20g:1mmol) não obteve-se exclusivamente os álcoois **86c** e **86d**, e sim uma mistura com as cetonas **85c** e **85d** respectivamente (Tabela 3.7, entradas 3 e 4), mesmo com tempos maiores de reação. As biorreduções das acrilofenonas **84a** e **84b** forneceram exclusivamente as cetonas **85a** e **85b** em bons rendimentos, porém com baixos excessos enantioméricos. Não obteve-se os álcoois **86a** e **86b** desejados (Tabela 3.7, entradas 1 e 2). O processo deve envolver duas reduções que utiliza duas enzimas diferentes: (i) *Redutase ligação dupla carbono-carbono* (*Enoato redutase*) e (ii) *Álcool desidrogenase* para **84c** e **84d**. No sentido de verificar a interação entre o substrato e o sítio ativo da enzima *Enoato redutase*, responsável pela primeira redução, submeteu-se a cetona saturada **85d** a nova biorredução (Tabela 3.7, entrada 5). Observou-se a formação de uma quantidade moderada do álcool **86d** (27% de conversão), indicando que existe uma certa dificuldade de transporte do substrato do sítio ativo da primeira para a segunda enzima.

O CaCl₂ utilizado neste método é um aditivo que influencia no transporte bioquímico de substrato.¹³⁴ Concentrações milimolares do cátion Ca⁺⁺ estabilizam a enzima *Álcool desidrogenase* (ADH I) de *Saccharomyces cerevisiae* evitando a dissociação de sua forma reduzida e o desdobramento da forma oxidada.¹³⁵ Para as variáveis temperatura e pH, importantes reguladores da atividade biológica dos

¹³⁴ Siegel, H. *Metal ions in biological Systems*, Marcell Dekker, Inc.; New York, 1981, vols. 12 e 13.

microorganismos, e a concentração de açúcar, regenerador das coenzimas NAD(P)H e fonte de energia, foram usadas as condições otimizadas pelo nosso grupo de pesquisa, isto é, 37°C, pH 5 e 100 g/L respectivamente.



I) FP, montmorilonita K10, KCl, CaCl₂, açúcar (Método A);
 FP, montmorilonita K10, (CH₃CH₂)₂O (Método B).

Esquema 3.12 Reduções de acrilofenonas biocatalisadas por FPI

Com o método B, desenvolvido por Smallridge,¹³⁶ obteve-se exclusivamente as cetonas saturadas **85a** e **85d** em bons rendimentos (Tabela 3.7, entradas 6 e 7). O uso da montmorilonita K10 como suporte para o FP não interferiu na conversão da reação. Como o meio reacional é orgânico, a ação das enzimas do microorganismo é limitada em função de sua quantidade inicial, já que não há a regeneração de co-fatores, preferencialmente NADPH¹³⁷. A reação apresentou em alguns casos uma aglomeração do FPI, tornando o meio reacional heterogêneo. O isolamento também foi problemático, já que o processo de filtração foi bastante lento. Mesmo assim, o método é particularmente interessante, pois reduz seletivamente a ligação dupla carbono-carbono sem reduzir a carbonila.

As reduções seletivas da ligação dupla carbono carbono obtidas com FPI pelo método B utilizando-se solvente orgânico (Tabela 3.7, entradas 6 e 7) e os obtidos nas reduções das acrilofenonas **84c** e **84d** com FPI em meio aquoso (Tabela 3.7, entradas 3 e 4)

¹³⁵ De Bolle, X.; Vinals, C.; Fostrez, J.; Feytmans, E. *Biochem J.* **1997**, *323*, 409.

¹³⁶ Smallridge, A. J.; McAnda, F. A.; Roberts, K. D.; Ten, A.; Trehwella, M. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1998**, 501.

¹³⁷ Kawai, Y.; Hayashi, M.; Inaba, Y.; Saitou, K.; Ohno, A. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5225.

mostram a potencialidade destes métodos para a síntese de feromônios de formigas e de besouros,¹³⁸ e também para a produção de aromas naturais na indústria alimentícia.¹³⁹

Tabela 3.7 Reduções de acrilofenonas biocatalisadas por FPI (Esquema 3.12)^a

En- trada	Subs- trato	R ¹	R ²	Tem- po (h)	Produto	Rend (%) ^b	Recup (%) ^c	[α] _D (CHCl ₃)	ee (%) ^d	Configu- ração Absoluta
1	84a	OMe	CH ₂ CO ₂ Me	20	(-)- 85a	59	0	-15	---	---
2	84b	H	CH ₂ CO ₂ Me	17	(-)- 85b	65	0	-6	12	S ¹⁴⁰
3	84c	H	Et	96	(-)- 85c	48	0	-24	93	R ¹⁴¹
					86c	25	---	---	---	---
4	84d	H	Mc	48	85d	37	13	---	---	---
					(-)- 86d	22	---	-27	96	S ¹⁴²
5	85d	H	Me	116	86d	---	73	---	---	---
6	84a	OMe	CH ₂ CO ₂ Me	21	85a	---	---	---	---	---
7	84d	H	Me	24	85d	68	9	---	---	---

^a entradas 1 a 5 utilizaram o Método A (FP, montmorilonita K10, KCl, CaCl₂, açúcar) e as entradas 6 e 7 utilizaram o Método B (FP, (CH₃CH₂)₂O).

^b Rendimento isolado após purificação em placa preparativa.

^c Substrato sem nenhuma transformação.

^d Excesso enantiomérico determinado através de CG/EM com coluna quiral.

A biorredução com *Saccharomyces cerevisiae* das acrilofenonas **84b** e **84d** seguiram o modelo de Prelog como pode ser observado pelos resultados apresentados na Tabela 3.7, isto é, a estereoquímica dos centros assimétricos para **85b** e **85d** apresentou configuração S. O mesmo não ocorreu com a biorredução da acrilofenona **84c**, que apresentou configuração R para a cetona saturada **85c**. Isto indica que a transferência do hidreto ocorreu pelo mecanismo anti-Prelog. Estas configurações absolutas foram

¹³⁸ a) Kato, M.; Mori, K. *Agric. Biol. Chem.* **1985**, *449*, 3073. b) Mori, K.; Iwasawa, H. *Tetrahedron* **1980**, *36*, 2209. c) Riley, R. G.; Silverstein, R. M.; Moscer, J. C. *Science* **1974**, *183*, 760. d) Mori, K.; Ebata, T. *Tetrahedron* **1986**, *42*, 4421. e) Mori, K.; Nomi, H.; Chuman, T.; Kohno, M.; Kato, K.; Noguchi, M. *Tetrahedron* **1982**, *38*, 3705.

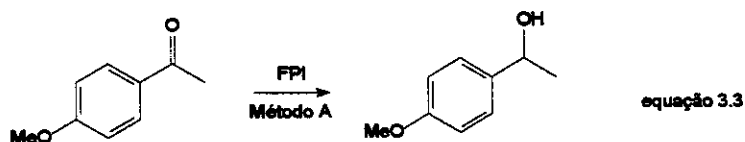
¹³⁹ a) Kawai, Y.; Saitou, K.; Hida, K.; Dao, D. H.; Ohno, A. *Bull. Soc. Chem. Jpn.* **1996**, *69*, 2633. b) Sakai, T.; Utaka, M.; Matsumoto, S.; Hidaka, S.; Imajo, N.; Tsuboi, S. *Bull. Soc. Chem. Jpn.* **1991**, *64*, 3473.

¹⁴⁰ Blanco, L.; Rousseau, G.; Barnier, J.-P.; Jampel, E. G. *Tetrahedron: Asym.* **1993**, *4*, 783.

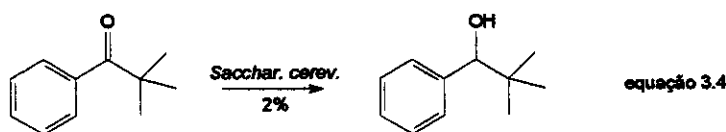
¹⁴¹ Oppolzer, W.; Bradander, J. D.; Darcel, C.; Rochet, P.; Rosset, S. *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 1319.

determinadas a partir da comparação das medidas de rotação ótica ($[\alpha]_D$) com os valores encontrados na literatura conforme indicado na Tabela 3.7, entradas 2, 3 e 4.

Com estes resultados, isto é, redução apenas da ligação dupla carbono-carbono, investigou-se o efeito eletrônico que o substituinte do anel pudesse causar nas reduções biocatalisadas. Segundo Faber,¹⁴³ variando-se o substituinte *para* no anel benzênico, observou-se que os grupos retiradores de elétrons, como o NO₂, favorecem a redução da carbonila e grupos doadores de elétrons, como o OMe, desfavorecem a redução da carbonila. Submetendo-se a *para*-metoxi-acetofenona às condições de biotransformação com FPI no método A por um tempo superior a 100h, observou-se apenas 3% de conversão ao álcool correspondente, comprovando que o grupo metoxila é um forte desativador para esta biotransformação (equação 3.3).



Um segundo fator inibidor da biorredução catalisada por FPI é o efeito estrutural do substrato empregado. As aril cetonas com carbono α quaternário praticamente não sofrem redução frente a *Saccharomyces cerevisiae* como demonstrado por Yamazaki¹⁴⁴ (equação 3.4). Por outro lado a aril cetona com carbono α secundário apresenta boa enantiosseletividade (Tabela 3.8). Como no caso em estudo, primeiramente temos a



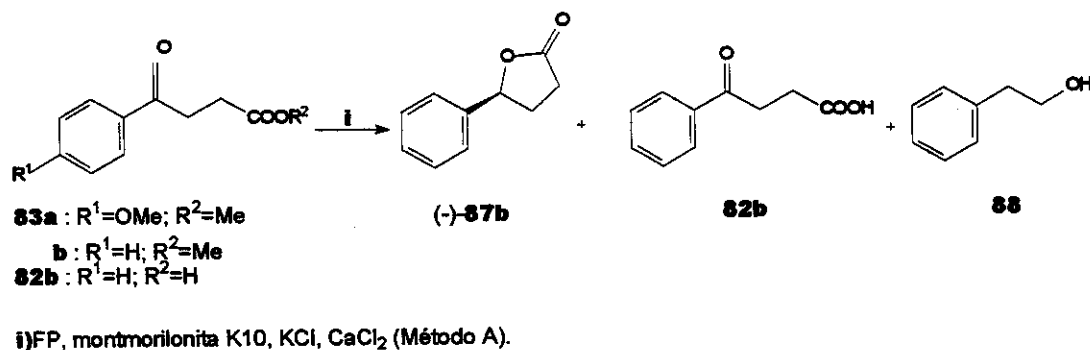
redução da ligação dupla carbono-carbono, para a redução da carbonila temos uma situação intermediária, ou seja, com carbono α terciário.

Ainda com o objetivo de estudar a biorredução da carbonila, uma vez que mostraram baixa reatividade nas condições empregadas, submeteu-se as arilcetonas **82b**, **83a-b** a reduções biocatalisadas por FPI com o Método A (Esquema 3.13). Testou-se

¹⁴² Lardicci, L.; Giancomelli, G.; Menicagli, R.; Caparusso, A. M. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 1790.

¹⁴³ Mitteilung, K.; Eichberger, G.; Faber, K.; Griengl, H. *Monatsch. Chem.* **1985**, *116*, 1233.

primeiramente a arilcetona **83a** (Tabela 3.8, entrada 1) e verificou-se que tal sistema não sofre redução frente a FPI, mesmo com tempos muitos longos e reposição de células. Submetendo-se a arilcetona **83b** (que equivale a arilcetona **83a** sem o grupo OMe) às mesmas condições de biorredução, verificou-se que a reação se processa lentamente com a formação da lactona (-)-**87b** e do ácido carboxílico **82b**, além da formação do sub-produto **88**. Também foi possível notar que a redução da carbonila somente ocorreu após a hidrólise do éster fornecendo a arilcetona **82b**. A hidrólise de éster mediada por FP é um processo conhecido e documentado na literatura.^{49a} Para comprovar a existência da hidrólise do éster, realizou-se um experimento partindo da arilcetona **82b** (Tabela 3.8, entrada 3). Com este substrato a redução ocorreu rapidamente, com alto rendimento da lactona quiral (-)-**87b** e sem a formação de sub-produto, contrariando a previsão inicial sobre a toxicidade de ácidos carboxílicos ao microorganismo *Saccharomyces cerevisiae*. Nesta biorredução, o mecanismo da transferência de hidreto ocorreu segundo a regra de Prelog⁵⁹ e o centro estereogênico criado apresentou a configuração S. Esta configuração absoluta foi determinada a partir da da comparação da medida de rotação ótica ($[\alpha]_D$) com o valor encontrado na literatura conforme indicado na Tabela 3.8, entradas 2 e 3.



Esquema 3.13. Reduções de arilcetonas biocatalisadas por FPI

A diferença na velocidade de redução pode também ser atribuída à diferença de solubilidade entre os dois substrato (ácido vs éster). A obtenção da lactona quiral **87** com a utilização de FPI, é um processo importante, pois é simples, rápido e barato.

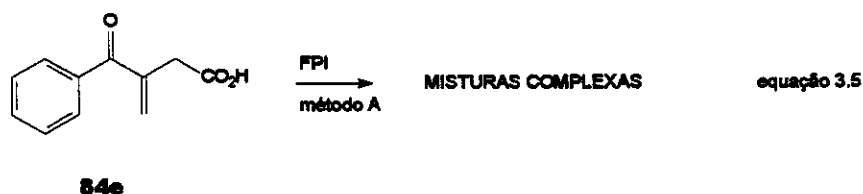
¹⁴⁴ Yamazaki, Y.; Kobayashi, H. *Chem. Express*. 1993, 97.

Tabela 3.8. Reduções de arilcetonas biocatalisadas por FPI (Esquema 3.13).

Entra-da	Subs-trato	R ¹	R ²	Tempo (h)	Produto	Rend. ^a (%)	[α] _D (CHCl ₃)	ee (%) ^d	Configura-ção Absoluta
1	83a	OMe	Me	168	c	---	---	---	---
2	83b	H	Me	140	(-)-87b ^b 88 ^b	18 10	---	91 ---	S ¹⁴⁵ ---
3	82b	H	H	19	(-)-87b	67	-34	94	S ¹⁴⁵

^a Rendimento isolado após purificação em placa preparativa.^b Obteve-se também 58% do substrato sem nenhuma transformação.^c Substrato sem nenhuma transformação.^d Excesso enantiomérico determinado através de CG/EM com coluna quiral.

O raciocínio desenvolvido na obtenção desta lactona foi estendido para o objetivo principal, isto é, submeteu-se o ácido do γ-cetoácido 84e às condições de biotransformação do método A por um período de 100h (equação 3.5).



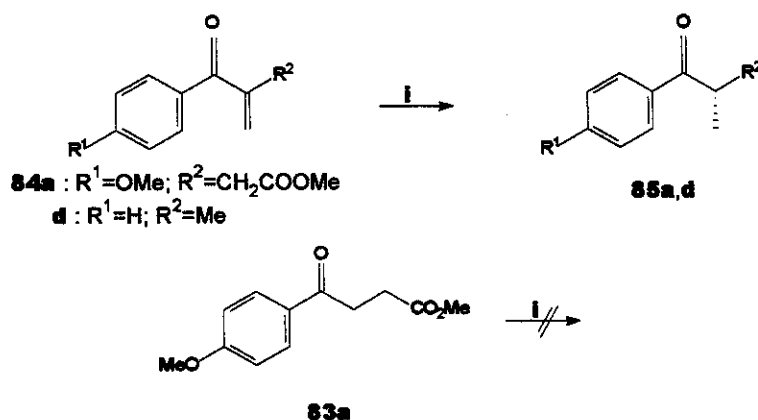
Nesta reação, obteve-se uma mistura difícil de ser interpretada através de seu cromatograma e espectros de massas. Pôde-se observar porém, que praticamente todo o material de partida foi consumido.

Devido a não criação dos dois centros assimétricos simultâneos nas acrilfenonas 84a e 84b com a utilização de FPI, foi efetuado uma avaliação da atividade de outros microorganismos para realizar tal transformação. Foi testado o fungo *Rhizopus arrhizus*, relatado ser eficiente na biorredução de arilcetonas,¹⁴⁶ e a bactéria *Pseudomonas fluorescens*, utilizada em outro projeto por nosso grupo de pesquisa, para reduções de acrilfenonas 84a e d (Esquema 3.14).

O microorganismo foi reativado através de hidratação da cultura seguido de adição de meio nutriente e incubação. Na etapa de crescimento as células foram centrifugadas e filtradas. O resíduo obtido contendo as células em repouso foi pré-ativado em meio

¹⁴⁵ Santaniello, E. J.; Manzocchi, A.; Casati, R.; Fiecchi, A. *J. Chem.Soc., Perkin Trans. 1* 1987, 2753.

nutriente e, com adição do substrato, avaliou-se as biotransformações. Tanto com o fungo como com a bactéria, obteve-se excelente redução seletiva da ligação dupla carbono-carbono para **84a** e **d** (Tabela 3.9, entradas 1, 2 e 3). Para a arilcetona **83a** não se obteve a redução da carbonila, mesmo com tempos prolongados de reação, seja com o fungo *Rhizopus arrhizus* ou com a bactéria *Pseudomonas fluorescens*. Realizou-se variações nos meios de culturas e também nas proporções microorganismo:substrato e não se observou mudanças, além da diminuição do tempo de reação.



I) microorganismo, tampão fosfato PBS pH7, 30°C, 110rpm.

Esquema 3.14. Reduções de acrilofenonas biocatalisadas por fungos e bactérias

Tabela 3.9. Reduções de derivados de acrilofenonas biocatalisadas por fungos ou bactérias (Esquema 3.14)

Entra- da	Microorga- Nismo	Subs- trato	R ¹	R ²	Tem- po (h)	Pro- duto	Rend (%) ^a	[α] _D (CHCl ₃)	ee (%) ^b
1	<i>Rhizopus arrhizus</i>	84a	OMe	CH ₂ COOMe	120	(-)- 85a	81	-14	—
2	<i>Rhizopus arrhizus</i>	84d	H	Me	24	85d	—	—	—
3	<i>P. fluorescens</i>	84a	OMe	CH ₂ COOMe	114	(-)- 85a	69	-67	>99

^a Rendimento isolado após purificação em placa preparativa.

^b Excesso enantiomérico determinado através de CG/EM com coluna quiral.

Portanto, ficou demonstrado nesta etapa que (i) a redução quimiosseletiva da ligação dupla carbono-carbono de acrilofenonas foi possível com os microorganismos

¹⁴⁶ Cabon, O.; Buisson, D.; Larcheveque, M.; Azerad, R. *Tetrahedron: Asymm.* **1995**, *6*, 2199.

empregados; (ii) a biorredução das 2 funções (carbonila e C=C), que ocorreu para os derivados de acrilofenona **84c** e **84d**, não teve eficiência para os γ -cetoésteres **84a** e **84b** e para o γ -cetoácido **84e**; (iii) o efeito eletrônico do substituinte *para* no anel benzênico não favorece a biorredução da carbonila de aril cetonas; (iv) a toxicidade do ácido carboxílico ao FPI não foi confirmada.

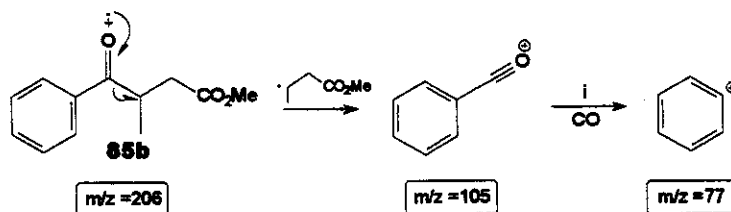
Em todas as reações de redução biocatalisadas utilizou-se principalmente CG/EM e IV como técnicas de caracterização. Nos espectros de massas as mudanças, em geral, foram o incremento da razão massa/carga no íon molecular e no fragmento característico. Determinou-se os excessos enantioméricos dos produtos finais através de análises em CG/EM com coluna quiral, onde os espectros de massas apresentaram padrão de fragmentação idênticos para os 2 enantiômeros. Nos espectros de IV, observou-se o surgimento de bandas a 3250 cm^{-1} característica de álcool e o desaparecimento de bandas referentes a carbonila a 1715 cm^{-1} , além do desaparecimento de bandas a 1650 cm^{-1} atribuída à ligação dupla C=C.

Como exemplos representativos dos produtos obtidos nesta etapa, escolheu-se a cetona saturada **85b**, o álcool saturado **86d** e a lactona **87b** para discussão de seus dados espectroscópicos.

3.4.2 Discussão de dados espectroscópicos da cetona saturada **85b**

O espectro na região de infra-vermelho da cetona saturada **85b** (Espectro 45) mostrou a presença de uma banda forte em 1687 cm^{-1} , característica de deformação axial do grupo carbonila de cetona, conjugado com o grupo fenila, e uma banda forte em 1738 cm^{-1} , referente a deformação axial do grupo carbonila do éster. A banda em 1659 cm^{-1} referente a deformação axial da ligação C=C observada no derivado de acrilofenona **84b** (item 3.3) desapareceu, indicando que esta função foi reduzida. O espectro apresenta ainda um banda fraca em 1597 cm^{-1} , relativa a deformação axial das ligações duplas C=C do anel aromático. A banda em 1464 cm^{-1} foi atribuída a deformação angular da ligação C-H. As bandas fortes em 1239 e 1174 cm^{-1} foram atribuídas a deformações axiais das ligações C-C(=O)-O do grupo éster.

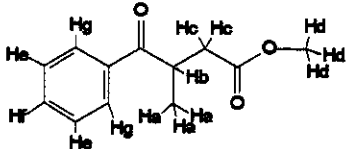
No espectro de massas da cetona saturada **85b** (Espectro 46), observou-se a presença do íon molecular em $m/z=206$. O pico base em $m/z=105$ foi atribuído ao íon acílio proveniente da clivagem α do íon molecular (Esquema 3.15). A clivagem indutiva do íon acílio, característico de cetonas, forneceu o cátion fenila em $m/z=77$ com perda neutra de CO.



Esquema 3.15. Fragmentação da cetona saturada **85b**

No espectro de ressonância magnética nuclear de prótons a 300 MHz da cetona saturada **85b** (Espectro 47), pôde-se observar um multiplete entre 2,31 e 2,37 ppm e foi atribuído ao próton H_b (Tabela 3.10). Os dois singletos em 5,79 e 6,00 ppm obtidos para a acrilufenona **84b** (item 3.3) desapareceram, evidenciando que a redução da ligação dupla carbono-carbono foi efetiva. Observou-se um singlete em 3,65 ppm, que foi atribuído aos prótons do grupo metoxila (H_d) e dois dubletos em 0,99 e 2,97 ppm que foram atribuídos aos prótons H_a e H_c respectivamente. Na parte do espectro referente aos prótons aromáticos, foram observados dois tripletos e um dubleto. O próton H_f , acoplado aos prótons H_e e H_g deu origem ao tripleto em 7,48 ppm, enquanto que o próton H_e , acoplado aos prótons H_f e H_g produziu outro tripleto em 7,59 ppm. O dubleto em 7,98 ppm foi atribuído ao próton H_g , acoplado ao próton H_e .

Tabela 3.10. Atribuição de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) para a cetona saturada 85b

			
Hidrogênio	Mult.	δ (ppm)	J (Hertz)
H _a	d	0,99	$^3J=7,0$
H _b	m	2,31-2,37	-
H _c	d	2,97	$^3J=8,0$
H _d	s	3,65	-
H _e	t	7,48	$^3J=7,7$
H _f	t	7,59	$^3J=7,1$
H _g	d	7,99	$^3J=7,0$

3.4.3. Discussão de dados espectroscópicos do álcool saturado 86d

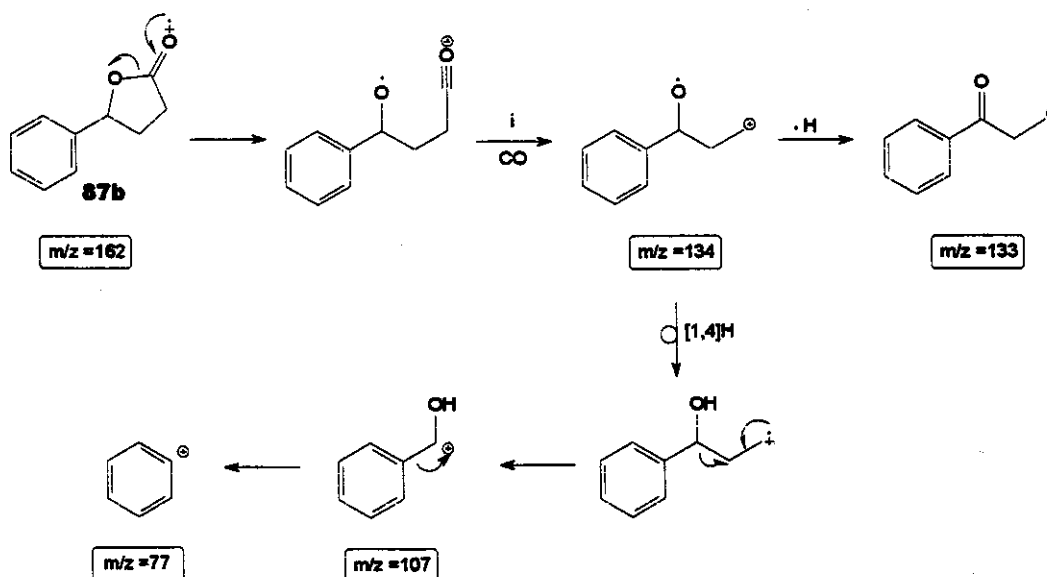
O espectro na região de infra-vermelho do álcool saturado 86d (Espectro 53) mostrou a presença de uma banda entre 3100 e 3600 cm⁻¹, típica da deformação axial de O-H em ligação hidrogênio intermolecular e a ausência de banda próximo a 1650 cm⁻¹ característica da deformação axial do grupo carbonila, indicando que a redução desta função foi efetiva. Observou-se também uma banda fraca em 1605 cm⁻¹ referente a deformação axial da ligação C=C aromática e uma banda em 1454 cm⁻¹ atribuída a deformação angular da ligação C-H.

No espectro de massas da cetona saturada 86d (Espectro 54), notou-se a presença do íon molecular em $m/z=150$ e sua fragmentação produziu o pico em $m/z=132$ com perda neutra de água (Esquema 3.16). A fragmentação do mesmo íon molecular forneceu o cátion com pico base em $m/z=107$.

3.4.4. Discussão de dados espectroscópicos da lactona 87b

O espectro na região de infra-vermelho da lactona 87b (Espectro 57), mostrou a absorção referente a deformação axial da ligação C=O em 1775 cm^{-1} , característica de γ -lactonas saturadas e uma banda em 1457 cm^{-1} referente a deformação axial da ligação C=C do anel aromático. Também foram observadas duas bandas em 1177 e 1143 cm^{-1} atribuídas a deformações axiais das ligações C-C(=O)-O da γ -lactona.

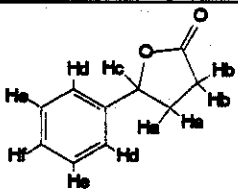
No espectro de massas da lactona 87b (Espectro 58), pode ser notada a presença do íon molecular em $m/z=162$ e sua fragmentação, incluindo uma clivagem indutiva fornecendo o cátion radicalar com $m/z=134$ (Esquema 3.17), que seguiu dois caminhos de fragmentação diferenciados. No primeiro, a perda de hidrogênio radicalar, produziu o pico com $m/z=133$. No segundo, um rearranjo [1,4] de hidrogênio produziu o cátion em $m/z=107$ e a fragmentação deste, gerou o cátion fenila em $m/z=77$.



Esquema 3.17 Fragmentação da lactona 87b

No espectro de RMN^1H a 300 MHz da lactona 87b (Espectro 59), observou-se um multipeto entre 1,23 e 1,31 ppm que foi atribuído ao próton H_a (Tabela 3.12). O

Tabela 3.12. Atribuição de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) para a lactona 87b

			
Hidrogênio	Mult.	δ (ppm)	J (Hertz)
H _a	m	1,23-1,31	-
H _b	m	2,62-2,68	-
H _c	dd	5,51	³ J=6,2 e ³ J=6,1
H _{d, e, f}	m	7,37-7,40	-

próton H_c originou um dubleto de dubletes em 5,51 ppm. O acoplamento do próton H_b com os prótons H_a produziu o multiplete entre 2,62 e 2,68 ppm. Os prótons aromáticos H_{d, e, f} deram origem ao multiplete entre 7,37 e 7,40 ppm.

3.5 Hidrogenações catalisadas por complexo de Rutênio

Para a criação dos dois centros estereogênicos em C-3 e C-4 do resíduo aminoácido *N*-terminal de nikkomicinas, estava previsto inicialmente, a utilização da metodologia de hidrogenação catalítica da acrilofenona **84** com complexo de Rutênio. Prevvia-se que esta metodologia poderia ser uma alternativa ao emprego do *Saccharomyces cerevisiae*. Nesta etapa, utilizou-se como catalisador das hidrogenações, um complexo de Rutênio com ligantes quirais (Figura 3.1).

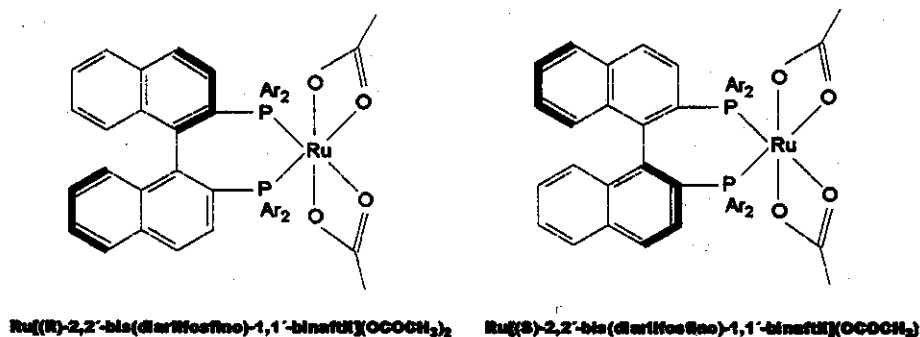


Figura 3.1. Estruturas dos (R) e (S)-BINAP-Ru

Segundo o modelo proposto por Genet^{101b} no estudo de redução assimétrica de 2-acilamino-3-oxobutiratos com ródio ou rutênio com vários ligantes quirais, o estado de transição esperado nesta síntese é hexacoordenado (Figura 3.2). A coordenação do metal com o grupo cetônico pode ocorrer pela face *re* ou pela face *si*. Com o grupo metila

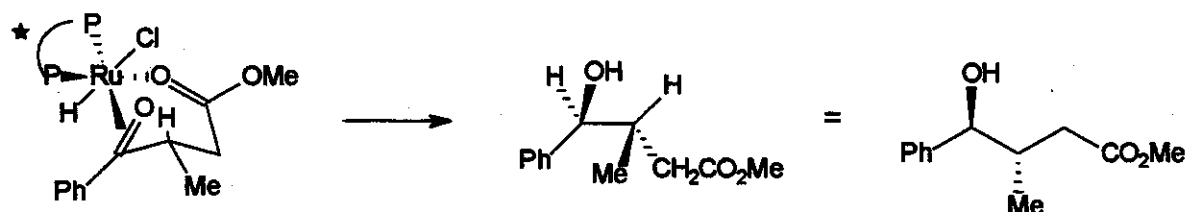
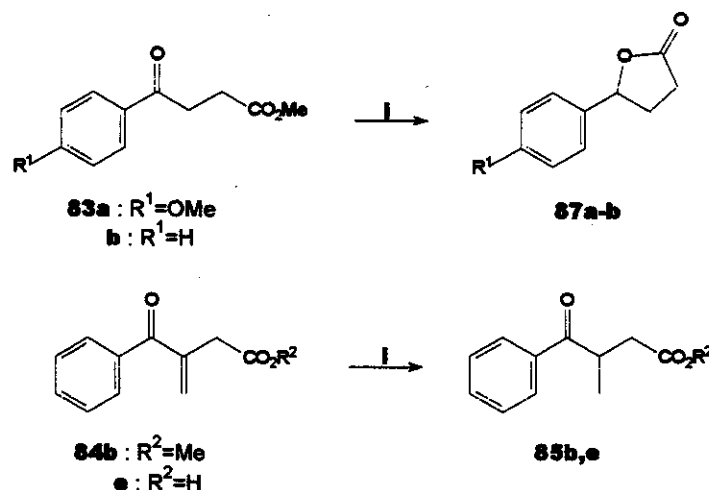


Figura 3.2. Proposta para coordenação do rutênio com o grupo cetônico.

na posição pseudo-equatorial, evita-se as interações 1,3 diaxiais e obtém-se os produtos *anti*. A situação mais desfavorável, ou seja, com o grupo na posição axial, favorece os produtos *syn*.

Assim, a coordenação do rutênio com a face *si* ou *re* da carbonila da cetona leva ao produto *anti* desejado (Figura 3.2).

Conduziu-se as hidrogenações catalíticas conforme procedimento descrito por Noyori^{101a} e representado no Esquema 3.18. O substrato em estudo foi dissolvido em



I) H_2 -100atm, (R) ou (S)BINAP-Ru, MeOH.

Esquema 3.18. Hidrogenações catalisadas por complexo de rutênio.

metanol, anidro e desgaseificado, em atmosfera inerte. Após adição do catalisador e troca da atmosfera inerte por hidrogênio, a pressão da auto-clave foi elevada para 100 atm e o meio reacional permaneceu sob agitação magnética por períodos apresentados na Tabela 3.13.

Tabela 3.13. Hidrogenação catalisada por complexo de rutênio (Esquema 3.18).

Entra- da	Substra- to	R^1	R^2	Configu- ração	Tempo (h)	Produto (Conv.)	ee (%) ^a
BINAP							
1	83a	OMe	---	R	71	87a (4%)	---
2	83b	H	---	S	250	87b (9%)	---
3	83b	H	---	R	48	87b (7%)	---
4	84b	---	Me	R	66	85b (93%)	20
5	84e	---	H	R	90	85e (49%)	44

^a Excesso enantiomérico determinado através de CG/EM com coluna quiral.

Como foram obtidas baixas taxas de conversões nas reduções, não isolou-se os produtos e nem determinou-se os excessos enantioméricos para as entradas 1 a 3 (Tabela 3.13). Trabalhou-se com solvente anidro e desgaseificado nestas reações já que o

catalisador é sensível ao ar, e ainda assim não foi possível elevar a taxa de conversão da reação. Para o γ -cetoéster **84b** e γ -cetoácido **84e** (Tabela 3.13, entradas 4 e 5) obteve-se reduções quimiosseletivas da ligação dupla carbono-carbono, porém com baixos excessos enantioméricos.

O objetivo desta etapa foi avaliar a possibilidade de redução estereosseletiva da carbonila. Se a redução da carbonila fosse efetiva, o emprego do complexo BINAP-Ru na cetona saturada **85a** enriquecida enantiomericamente forneceria, segundo a Figura 3.2, o álcool saturado *anti* desejado.

3.6 Reduções com hidretos de boro

Outra alternativa para a obtenção dos centros assimétricos em C-3 e C-4 do resíduo amino-ácido *N*-terminal de nikkomicinas pode ser a redução com hidretos de boro.

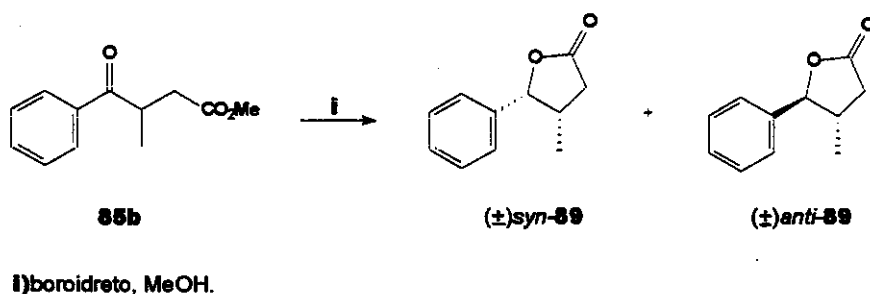
Oshima e Utimoto¹²⁶ demonstraram que reduções de ($\pm$)-2-metil-3-oxoésteres com boroidreto de sódio (NaBH_4) levam preferencialmente aos *anti* 2-metil-3-hidroxiopropionatos. As mesmas reduções na presença de vários cloretos de metais (Ce, Sm, Ba, Yb, Zn, Mg ou Mn) conduziram preferencialmente aos *syn* 2-metil-3-hidroxiopropionatos, sendo o MnCl_2 o mais eficaz, isto é, o mais diastereosseletivo. Os autores demonstraram ainda que o emprego de boroidreto de tetrabutilamônio ($n\text{-Bu}_4\text{NBH}_4$) conduz seletivamente ao isômero *anti* (91:9), valores estes superiores aos encontrados com NaBH_4 .

Com base nestes resultados, conduziu-se as reduções dos γ -cetoésteres com NaBH_4 e $n\text{-Bu}_4\text{NBH}_4$ (Esquema 3.19). Este último, além de ser usado em sua forma comercial, também foi gerado *in situ* através do iodeto de tetrabutilamônio ($n\text{-Bu}_4\text{NI}$) segundo a equação 3.6.



O substrato foi dissolvido em metanol e a mistura foi resfriada para adição do hidreto de boro. Após completada a reação, os produtos foram isolados e caracterizados.

Com a diminuição da temperatura até -78°C , a lactona *anti*-89 foi obtida preferencialmente através do emprego dos dois boroidretos. O melhor resultado foi encontrado com boroidreto de tetrabutilamônio, que apresentou uma diastereosseletividade de 7:93 *syn:anti* (Tabela 3.14, entrada 9). Com o aumento da quantidade de boroidreto, Tabela 3.14, entrada 5, não observou-se mudanças significativas nos resultados. Os rendimentos foram, de uma forma geral, moderados.



Esquema 3.19. Reduções dos γ -cetoésteres com hidretos de boro.

Tabela 3.14. Redução dos γ -cetoésteres com hidretos de boro (Esquema 3.19)

Entra- da	Agente Redutor	Tempera- tura ($^{\circ}\text{C}$)	Tempo	Rend. (%) ^a	Proporção <i>syn</i> -89: <i>anti</i> -89
1	NaBH_4 (1eq.)	ta	50m	79	45 : 55
2	NaBH_4 (1eq.)	0	50m	81	35 : 65
3	$n\text{-Bu}_4\text{NBH}_4$ (1eq.)	0	50m	77	45 : 55
4	$n\text{-Bu}_4\text{NBH}_4$ (1eq.)	0	50m	-	50 : 50 ^b
5	$n\text{-Bu}_4\text{NBH}_4$ (2eq.)	0	50m	-	44 : 56
6	NaBH_4 (1eq.)	-23	3h	-	20 : 80
7	$n\text{-Bu}_4\text{NBH}_4$ (1eq.)	-23	3h	-	24 : 76
8	NaBH_4 (1eq.)	-78	6h	76	10 : 90
9	$n\text{-Bu}_4\text{NBH}_4$ (1eq.)	-78	6h	80	7 : 93

^a Rendimento isolado após purificação em placa preparativa.

^b Boroidreto gerado *in situ*, conforme equação 3.6.

O favorecimento da obtenção da lactona *anti*-89 pode ser explicado com o modelo de Felkin-Anh¹⁴⁷ (Figura 3.3). Segundo o modelo, o grupo mais polar se posiciona perpendicular ao sistema π e o ataque do hidreto ocorre pelo lado oposto ao grupo carboalcoxi. Como representado na Figura 3.3, a metila não causa interação com o grupo fenila e a transferência do hidreto fornece o produto *anti*. O diastereoisômero *syn* é desfavorecido pois a interação metila-fenila é efetiva.

O emprego do $n\text{-Bu}_4\text{NBH}_4$ apresentou a diastereosseletividade esperada,

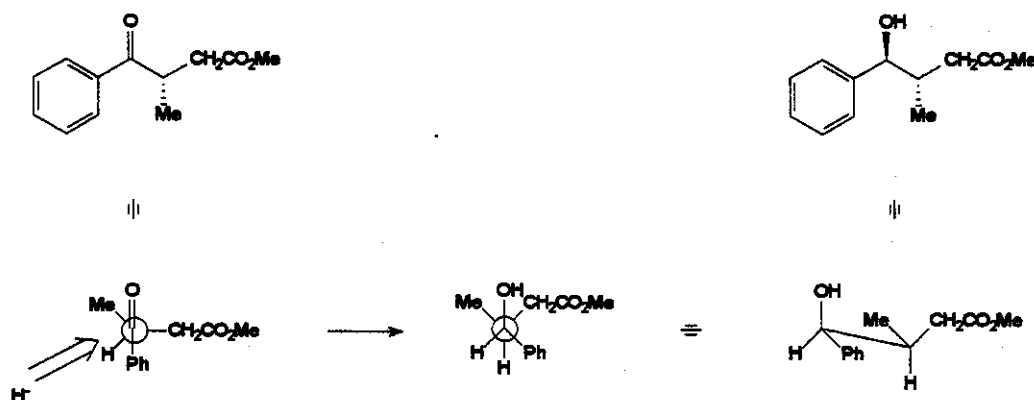


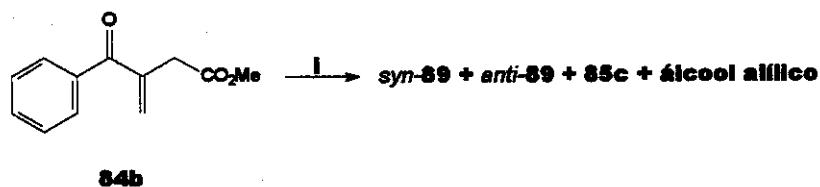
Figura 3.3. Modelo de Felkin-Anh.

ou seja, superior àquela obtida com o emprego de NaBH_4 , exceto para a entrada 4-Tabela 3.14, indicando que a preparação do $n\text{-Bu}_4\text{NBH}_4$ não tenha sido eficiente.

Testou-se também a redução das duas funções da acrilifenona 84b com NaBH_4 (Esquema 3.20). Porém, como divulgado por Luche,^{148,115} obteve-se uma mistura do álcool alílico e do álcool saturado.

¹⁴⁷ a) Chérest, M.; Felkin, H.; Prudent, N. *Tetrahedron Lett.* 1968, 2199. b) Anh, N. T.; Eisenstein, O. *Nouv. J. Chim.* 1977, 1, 61.

¹⁴⁸ Warren, S.; Elliot, J.; Hall, D. *Tetrahedron Lett.* 1989, 30, 601.



I) boroidreto, MeOH.

Esquema 3.20. Redução da acrilofenona 84b com NaBH₄.

Com isso, nessa etapa, atingiu-se a redução da carbonila e obteve-se a lactona ($\pm$) *anti*-89 preferencialmente.

Os produtos *syn*-89 e *anti*-89 foram identificados através dos espectros na região do infra-vermelho, de massas e de ressonância magnética nuclear de prótons.

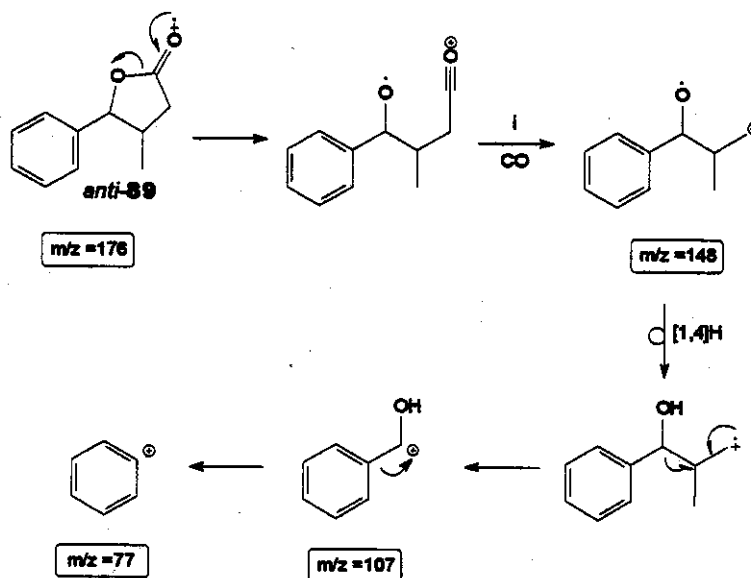
A única diferença entre os espectros dos dois diastereoisômeros foi observada nos espectros de RMN¹H (Espectros 63 e 66), e os diferentes tempos de retenção encontrados nas análises cromatográficas facilitaram a distinção dos dois diastereoisômeros. O espectro do diastereoisômero *anti* apresenta uma constante de acoplamento $J=8,4$ Hz para os hidrogênios H_a e H_d, característica de hidrogênios *anti* e comparável ao valor encontrado na literatura.¹⁵ Já o espectro do diastereoisômero *syn* apresenta, para os mesmos hidrogênios, uma constante de acoplamento $J=5,0$ Hz.

A discussão dos dados espectroscópicos ficará centralizada na lactona *anti*-89, a qual também vale para o diastereoisômero *syn*-89, com exceção da diferença já citada.

O espectro na região de infra-vermelho da lactona *anti*-89 (Espectro 64), mostrou a absorção em 1714 cm⁻¹, característica de γ -lactonas insaturadas e uma banda em 1415 cm⁻¹ referente a deformação axial da ligação C=C do anel aromático. Também foram observadas duas bandas em 1293 e 1238 cm⁻¹ atribuídas a deformações axiais das ligações C-C(=O)-O da γ -lactona.

No espectro de massas da lactona *anti*-89 (Espectro 65), pode ser observada a presença do íon molecular em $m/z=176$ e sua fragmentação, incluindo uma clivagem

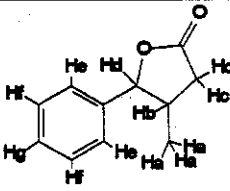
indutiva, fornecendo o cátion radicalar com $m/z=148$ (Esquema 3.21). Este último sofreu rearranjo [1,4] de hidrogênio produzindo o cátion em $m/z=107$, que com subsequente fragmentação gerou o cátion fenila em $m/z=77$.



Esquema 3.21. Fragmentação da lactona *anti*-89

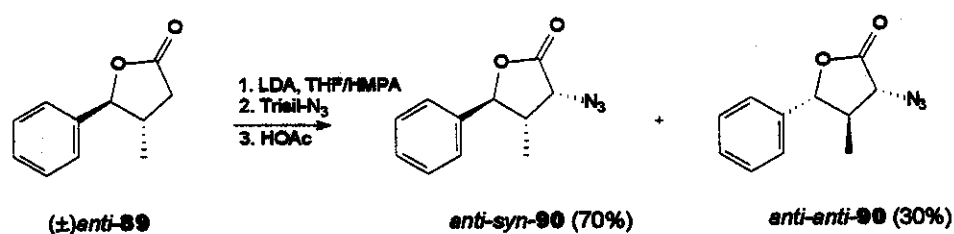
No espectro de RMN¹H a 300 MHz da lactona *anti*-89 (Espectro 66), observou-se um dubleto centrado em 1,20 ppm, que foi atribuído ao hidrogênio H_a, e um multiplete entre 2,42 e 2,48 ppm que foi atribuído ao próton H_b (Tabela 3.15). O próton H_c produziu um dubleto de dubletes em 2,80 ppm. O acoplamento do próton H_d com o próton H_b produziu o dubleto centrado em 4,94 ppm com constante de acoplamento de 8,4 Hz. Os prótons aromáticos H_{e,f,g} deram origem a sinais complexos entre 7,33 e 7,38 ppm.

Tabela 3.15. Atribuição de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) para a lactona *anti*-89

			
Hidrogênio	Mult.	δ (ppm)	J (Hertz)
H _a	d	1,20	³ J=6,6
H _b	m	2,42 - 2,48	-
H _c	dd	2,80	³ J=7,3
H _d	d	4,94	³ J=8,4
H _{e,f,g}	m	7,33 - 7,38	-

3.7 Finalização da preparação do resíduo aminoácido N-terminal.

Os dois enantiômeros *anti*-89 poderão ser transformados nos dois diastereoisômeros 90, através de um processo de azidação eletrofilica (Esquema 3.22), e então ser separados levando ao resíduo aminoácido desejado na forma de lactona.



Esquema 3.22. Azidação eletrofilica.

Recentemente, Bloch¹⁷ publicou esta transformação obtendo 96% de rendimento das lactonas 90.

4 - CONCLUSÃO

Através da otimização dos procedimentos para a obtenção do ácido benzoilpropiónico e dos estudos de métodos para inserção do grupo α -metilênico à cetona, atingiu-se o objetivo primário que foi a preparação de substratos para as etapas de biotransformação. Vários métodos foram estudados para a α -metilenação e, após eliminar problemas de polimerização e isolamento do produto final, foi possível determinar que o método que utiliza morfolina e formaldeído foi o mais conveniente. Por esta metodologia o 3-benzoil-3-butenato de metila foi obtido com 91% de rendimento. A alternativa encontrada foi bastante adequada à síntese dos derivados de acrilofenona, principalmente do ponto de vista econômico, já que os reagentes envolvidos são de baixo custo.

Nas etapas de biotransformação, atingiu-se resultados interessantes como a redução estereo e quimiosseletiva da ligação dupla carbono-carbono, além de demonstrar que os efeitos eletrônico e estéricos envolvidos no processo de biorredução é desfavorável para o plano sintético para a carbonila. O melhor resultado foi obtido com o uso de *Saccharomyces cerevisiae*, que forneceu o 4-fenil-3-metil-4-oxo-butanoato de metila em 65% de rendimento e 12% ee para o isômero S.

Resultados semelhantes foram obtidos com o uso da metodologia de redução catalisadas por complexo de rutênio com ligante quirais, (R) e (S) BINAP. Nesta etapa obteve-se o 4-fenil-3-metil-4-oxo-butanoato de metila em 93% de conversão e 20% ee.

O emprego de hidretos de boro (sódio ou tetrabutilamônio) na redução da carbonila do 4-fenil-3-metil-4-oxo-butanoato de metila, apresentou alta diastereosseletividade na obtenção da lactona *anti*-5-fenil-4-metil-tetraidro-2-furanona, atingindo 97:3 (*anti:syn*) e 80% de rendimento para o caso do boroidreto de tetrabutilamônio. A finalização da síntese do resíduo aminoácido *N*-terminal de nikkomicinas, pode ser conduzida com a utilização da lactona *anti*-5-fenil-4-metil-tetraidro-2-furanona, em uma reação de azidação eletrofílica (Esquema 3.22), a qual está bem documentado na literatura.¹⁷

Os estudos realizados demonstram que os métodos utilizados conduzem ao resíduo aminoácido *N*-terminal de nikkomicinas, embora a etapa de biotransformação não tenha apresentado resultados satisfatórios. A enantiosseletividade da etapa de biotransformação pode ser melhorada com os estudos em andamento no nosso grupo de pesquisa.

5 - PARTE EXPERIMENTAL

5.1 *Considerações Gerais*

Para obtenção dos dados espectroscópicos e a determinação de algumas propriedades físico-químicas dos compostos, foi utilizada a instrumentação descrita a seguir. Os espectros obtidos encontram-se no Capítulo 6.

Ponto de Fusão

Aparelho de ponto de fusão Microquímica MQAFP-301, sem correção de escala.

Polarímetro

Polarímetro Carl Zeis Polamat A foi usado para determinação da rotação específica.

Espectroscopia de Infravermelho

Espectrômetro Bomem MBFT series foi usado para obtenção dos espectros de IV utilizando-se para filme, cela de NaCl ou pastilha de KBr.

Análise Elementar

Analizador Elementar Perkin Elmer 2400 CHN.

Cromatografia Gasosa / Espectrometria de Massas

Cromatógrafo gasoso com espectrômetro de massas da Shimadzu modelo GC-MS-QP5000. Nas análises de substâncias sem atividade ótica foi utilizado coluna DB-5 (5% fenil metilsiloxano), e as medidas de excesso enantioméricos foram feitas com coluna quiral, fase estacionária heptakis-(2,6-metil-3-pentil)- β -ciclodextrina.

Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Espectrômetros Bruker modelo AC-300P e Varian Gemini 300 para obtenção dos espectros de RMN^1H e RMN^{13}C , utilizando como solventes clorofórmio deuterado e tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os deslocamentos químicos foram expressos em δ (ppm), indicando-se multiplicidade (s, singleto; d, dubleto; t, tripleto; q, quarteto; m, multipletto), constante de acoplamento (J) em Hertz e número de hidrogênios. Os deslocamentos químicos nos espectros de RMN^{13}C -DEPT foram denotados como (+) (CH_3 e CH) ou (-) (CH_2).

Os reagentes utilizados foram obtidos dos fornecedores Aldrich, Merck e Fluka, e tiveram purificação prévia quando necessário. Os solventes anidros foram preparados de acordo com os procedimentos descritos na literatura.¹⁴⁸ O fermento de pão liofilizado utilizado foi obtido da N. V. Algist-Bruggeman S. A. (Bélgica).

As purificações em colunas cromatográficas foram efetuadas utilizando-se sílica gel 60 Merck (70-230 Mesh). As purificações em cromatografias preparativas em camadas foram feitas utilizando-se sílica gel 60 $\text{PF}_{254} + {}_{366}$ Merck, enquanto que para as cromatografias em camadas delgadas (ccd) utilizou-se sílica gel 60 HF_{254} Merck.

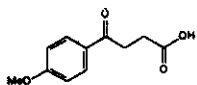
5.2 Síntese das arilcetonas

5.2.1 Procedimento geral

Em um balão de duas bocas, pesou-se 38,0g (284,9mmol) de cloreto de alumínio e adicionou-se 350mL de benzeno anidro. Adaptou-se ao balão um condensador de refluxo e um funil de adição de sólidos. No condensador adaptou-se um trap para neutralizar o ácido clorídrico formado. Sob agitação magnética e em banho de água, adicionou-se lentamente, pelo funil de adição, 100,0mmol do anidrido. Terminada a adição aqueceu-se o sistema até o benzeno refluxar lentamente. Após 90 minutos, destruiu-se o excesso de cloreto de

alumínio, vertendo-se lentamente o meio reacional sobre 150g de gelo e 150mL de ácido clorídrico concentrado. Extraíu-se com éter etílico e lavou-se a solução etérea com solução saturada de cloreto de sódio. Secou-se sob MgSO_4 e evaporou-se o solvente sob pressão reduzida. O óleo obtido foi purificado através de cromatografia em coluna, eluindo-se com sistema de solventes acetato de etila:hexano (20:80).

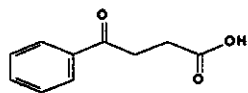
5.2.2 Preparação do ácido 3-(4-metoxibenzoil)-propiónico, 82a



Em uma mistura de 45mL de tetracloreto de carbono e nitrobenzeno (80:20) anidros dissolveu-se 3,8g (35mmol) de anisol e 3,7g (37mmol) de anidrido succínico. Resfriou-se a solução a 1°C e, durante 2h, adicionou-se 9,8g (73 mmol) de cloreto de alumínio sublimado mantendo-se a temperatura entre 1 e 3°C . Acondicionou-se o balão com a mistura reacional em gelo e deixou-se em repouso por 3 dias a 4°C . Após o repouso, tratou-se a mistura com água e ácido clorídrico. Através de filtração separou-se o hidróxido de alumínio e extraiu-se o filtrado obtido com diclorometano. Secou-se a solução sob MgSO_4 e evaporou-se o solvente sob pressão reduzida, obtendo-se um sólido cristalino correspondente ao composto 82a. Este sólido foi purificado dissolvendo-o em solução aquosa de Na_2CO_3 5% seguido de adição de éter etílico. As lavagens com éter foram conduzidas até o solvente não apresentar coloração alguma. À fase aquosa resultante, adicionou-se uma solução de HCl concentrado até pH 2, quando precipitou todo o ácido. Adicionou-se diclorometano até dissolução do ácido e secou-se o solvente sob MgSO_4 . Evaporou-se o solvente sob pressão reduzida e obteve-se um sólido cristalino com um rendimento de 72%. IV (filme) : 3050-2600, 2916, 1699, 1667, 1602, 1423, 1192, 1174 cm^{-1} (Espectro 01). pf = 151,1 a $152,4^\circ\text{C}$ ($146-7^\circ\text{C}^{149}$). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 208(M^+ ,13), 191(4), 149(28), 135(6), 121(13), 105(4), 91(9), 69(32), 60(18), 43(100) (Espectro 02). RMN^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 2,79 (t, $J=6,6\text{Hz}$, 2H), 3,28 (t, 2H), 3,87 (s, 3H), 6,94 (d, $J=9,2\text{Hz}$, 2H), 7,97 (d, $J=8,8\text{Hz}$, 2H) (Espectro 03).

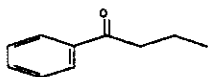
¹⁴⁹ Rahman, M. T.; Nur, H. P. J. *Indian Chem. Soc.* 1994, 71, 469.

5.2.3 Preparação do ácido 3-benzoil-propiónico, 82b



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.2.1, utilizou-se 10,0g de anidrido succínico e obteve-se 14,4g (81%) de um líquido amarelo. IV (filme): 3050-2600, 2923, 1682, 1596, 1448, 1402, 1240 cm^{-1} (Espectro 04). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 178 (M^+ , 3), 160 (4), 105 (100), 77 (65), 51 (37), (Espectro 05). RMN^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 2,82 (t , $J=6,6\text{Hz}$, 2H), 3,32 (t , $J=6,6\text{Hz}$, 2H), 7,47 (t , $J=7,1\text{Hz}$, 2H), 7,58 (t , $J=7,4\text{Hz}$, 1H), 7,98 (d , $J=7,1\text{Hz}$, 2H) (Espectro 06).

5.2.4 Preparação da butirofenona, 82c



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.2.1, utilizou-se 15,8g de anidrido butírico e obteve-se 11,6g (79%) de um líquido amarelo. IV (filme): 2963, 2875, 1686, 1599, 1448, 1370, 1274, 1213 cm^{-1} (Espectro 07). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 148 (M^+ , 21), 130 (3), 120 (14), 105 (100), 91 (2), 77 (75), 51 (50) (Espectro 08). RMN^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1,01 (t , $J=7,4\text{Hz}$, 3H), 1,74-1,81 (m, 2H), 2,96 (t , $J=7,0\text{Hz}$, 2H), 7,47 (t , $J=5,7\text{Hz}$, 2H), 7,54 (t , $J=5,9\text{Hz}$, 1H), 7,98 (d , $J=1,4\text{Hz}$, 2H) (Espectro 09).

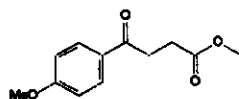
5.3 Síntese dos γ -cetoésteres

5.3.1 Procedimento geral

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se a arilcetona 82a e éter etílico até dissolução dos sólidos. Sob resfriamento em gelo adicionou-se uma solução etérea de diazometano (CH_2N_2). Encerrou-se a adição quando não houve mais desprendimento de gás nitrogênio e o meio reacional adquiriu a mesma coloração da solução etérea de diazometano. Comprovou-se a presença de excesso de diazometano através de adição de

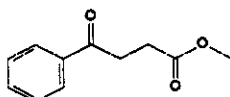
ácido acético glacial a uma alíquota da mistura reacional. Evaporou-se o éter etílico sob pressão reduzida para obtenção do γ -cetoéster.

5.3.2 Preparação do 3-(4-metoxibenzoil)-propionato de metila, 83a



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.3.1, utilizou-se 2,2g (10,7mmol) da arilcetona **82a** e obteve-se 2,3g (97%) de um sólido amarelo. **IV** (filme): 2951, 1723, 1669, 1600, 1439, 1159 cm^{-1} (**Espectro 10**). **pf** = 43,5 a 44,8 $^{\circ}\text{C}$ (43 a 44 $^{\circ}\text{C}^{133}$). **EM** (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 222 (M^+ ,9), 191 (16), 163 (3), 135 (100), 107 (36), 92 (40), 77 (52), 64 (36), 50 (16) (**Espectro 11**). **RMN ^1H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 2,76 (t, $J=6,7\text{Hz}$, 2H), 3,28 (t, $J=6,7\text{Hz}$, 2H), 3,71 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 6,93 (d, $J=2,0\text{Hz}$, 2H), 7,97 (d, $J=2,1\text{Hz}$, 2H) (**Espectro 12**). **RMN ^{13}C** (75MHz, CDCl_3) δ (ppm): 28,12; 33,02; 51,80; 55,47; 113,75; 130,30; 163,58; 173,52; 196,55 (**Espectro 13**)

5.3.3 Preparação do 3-benzoil-propionato de metila, 83b



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.3.1, utilizou-se 4,0g (22,5mmol) da arilcetona **82b** e obteve-se 4,2g (97%) de um líquido amarelo **IV** (filme): 2954, 1738, 1687, 1597, 1449, 1221, 1167 cm^{-1} (**Espectro 14**). **EM** (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 192 (M^+ ,7), 174 (3), 161 (20), 133 (3), 105 (100), 77 (66), 51 (40) (**Espectro 15**). **RMN ^1H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 2,77 (t, $J=6,6\text{Hz}$, 2H), 3,32 (t, $J=6,6\text{Hz}$, 2H), 3,71 (s, 3H), 7,47 (t, $J=7,1\text{Hz}$, 2H), 7,57 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 1H), 7,98 (d, $J=7,1\text{Hz}$, 2H) (**Espectro 16**).

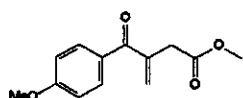
5.4 Síntese dos derivados de acrilofenona

5.4.1 Procedimento geral

Em uma mistura do γ -cetoéster **83** e ácido acético glacial adicionou-se morfolina e aqueceu-se até o refluxo em banho de óleo e sob agitação magnética. A esta mistura

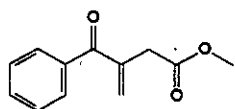
reacional adicionou-se, num período de 5h, uma solução aquosa de formaldeído a 37%. Após completada a reação, destilou-se o ácido acético sob pressão reduzida e diluiu-se o resíduo com acetato de etila. Lavou-se a fase orgânica sucessivamente com solução aquosa de ácido clorídrico 10%, solução saturada de bicarbonato de sódio, água e solução de cloreto de sódio. Secou-se a fase orgânica sob MgSO_4 e evaporou-se o solvente sob pressão reduzida. Purificou-se o óleo obtido por cromatografia em coluna (silica gel 60, 70-230 mesh) eluindo-se com sistema de solvente acetato de etila:hexano (5:95).

5.4.2 Preparação do 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenato de metila, 84a.



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.4.1, utilizou-se 2,6g (11,6mmol) do γ -cetoéster 83a; 21mL de ácido acético glacial; 0,5mL (5,8mmol) de morfolina e 5,3mL de formaldeído 37%. Obteve-se 1,9g (71%) de um óleo. IV (filme): 2954, 2925, 1736, 1650, 1602, 1461, 1257, 1160 cm^{-1} (Espectro 17). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 234 (M^+ ,15), 203 (12), 175 (11), 135 (100), 107 (33), 92 (52), 77 (85), 64 (52), 50 (28) (Espectro 18). RMN^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 3,55 (s,2H), 3,67 (s,3H), 3,87(s,3H), 5,72 (s,1H), 5,91 (s,1H), 6,94 (d, $J=7,0\text{Hz}$,2H), 7,85 (d, $J=9,2\text{Hz}$,2H) (Espectro 19). RMN^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 38,33; 52,11; 55,57; 113,74; 127,30; 132,41; 141,54; 163,55; 171,80; 196,05 (Espectro 20). RMN^{13}C (DEPT) (75MHz, CDCl_3) δ (ppm): 38,33(-); 52,12(+); 55,57(+); 113,73(+); 127,32(-); 130,56(+); 132,42(+) (Espectro 21). AE: $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_4$: 234,250 calc.: C: 66,67, H: 5,98. obt.: C: 66,35, H: 6,04.

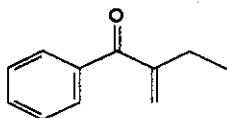
5.4.3 Preparação do 3-benzoil-3-butenato de metila, 84b



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.4.1, utilizou-se 2,8g (14,7mmol) do γ -cetoéster 83b; 30mL de ácido acético glacial; 0,70mL (8mmol) de morfolina e 7,0mL de formaldeído 37%. Obteve-se 2,7g (91%) de um óleo amarelo. IV (filme): 2955, 1740, 1687, 1659, 1599, 1449, 1203 cm^{-1} (Espectro 22). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 204 (M^+ ,5), 172 (14), 145 (8), 117 (5), 105 (100), 77 (61), 59 (8) (Espectro 23). RMN^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 3,56(s,2H), 3,69(s,3H),

5,79(s,1H), 6,00(s,1H), 7,45(t, $J=7,3$ Hz,2H), 7,53(t, $J=7,3$ Hz,1H), 7,79(d, $J=7,0$ Hz,2H). (Espectro 24). RMN^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 37,83; 52,02; 128,19; 129,65; 132,32; 137,19; 141,18; 171,41; 196,99. (Espectro 25). RMN^{13}C (DEPT) (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 38,31(-); 52,52(+); 128,65(+); 129,36 (-); 130,10(+); 132,79(+). (Espectro 26).

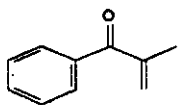
5.4.4 Preparação do 2-benzoil-1-butenos, 84c



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.4.1, utilizou-se 2,2g (15,0mmol) da arilcetona 82c; 30mL de ácido acético glacial;

0,70mL (8mmol) de morfolina e 7,0mL de formaldeído 37%. Obteve-se 1,8g (76%) de um óleo. IV (filme): 2968, 2936, 1657, 1625, 1597, 1448, 1291, 1258 cm^{-1} (Espectro 27). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 160 (M^+ , 12), 159 (13), 145 (22), 131 (7), 117 (6), 105 (100), 91 (3), 77(72), 51(44) (Espectro 28). RMN^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1,13(t, $J=7,3$ Hz,3H), 2,49(q, $J=7,3$ Hz,2H), 5,58(s,1H), 5,82(s,1H), 7,43(t, $J=7,3$ Hz,2H), 7,46(t, $J=5,4$ Hz,1H), 7,74(d, $J=2,2$ Hz,2H) (Espectro 29). RMN^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 12,36; 25,16; 124,29; 128,14; 129,47; 132,14; 137,93; 149,70; 198,61 (Espectro 30). RMN^{13}C (DEPT) (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 12,93(+), 26,00(-), 124,75(-), 128,55(+), 129,89(+), 133,12(+). (Espectro 31).

5.4.5 Preparação do 2-benzoil-propeno, 84d

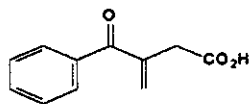


Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.4.1, utilizou-se 6,7g (49,9mmol) de propiofenona; 90mL de ácido acético glacial; 2.2mL

(25mmol) de morfolina e 22,8mL de formaldeído 37%. Obteve-se 5,1g (71%) de um óleo amarelo. IV (filme): 2981, 1739, 1656, 1597, 1448, 1333, 1242 cm^{-1} (Espectro 32). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 146 (M^+ , 32), 118 (29), 105 (100), 77 (75), 51 (62) (Espectro 33). RMN^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 2,07(d, $J=0,8$ Hz,3H), 5,62(s,1H), 5,91(s,1H), 7,42(t, $J=8,0$ Hz,2H), 7,52(t, $J=7,4$ Hz,1H), 7,72(d, $J=2,2$ Hz,2H). (Espectro 34). RMN^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 18,51; 126,96; 128,05; 129,29; 131,90; 137,59; 143,64; 198,22. (Espectro 35). RMN^{13}C DEPT (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 19,05(-), 127,55(-), 128,57(+), 129,81(+), 132,44(+). (Espectro 36).

5.4.6 Preparação do ácido 3-benzoil-3-butenóico, 84e

5.4.6.1 Através da arilcetona 82b



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.4.1, utilizou-se 1,1g (6,2mmol) da arilcetona 82b; 15mL de ácido acético glacial; 0,26mL (3mmol) de morfolina e 3,0mL de formaldeído 37%. Obteve-se 0,7g (62%) de um óleo amarelo. **IV** (filme): 3062, 1712, 1657, 1597, 1449, 1233 cm^{-1} . (**Espectro 37**). **EM** (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 190(M^+ ,3), 147(3), 131(3), 105(100), 77(48), 51(26). (**Espectro 38**). **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 3,56 (s,2H), 5,82 (s,1H), 6,04 (s,1H), 7,27 (s,1H), 7,44 (t, $J=7,7\text{Hz}$, 2H), 7,54 (t, $J=6,2\text{Hz}$, 1H), 7,78 (d, $J=5,1\text{Hz}$, 2H) (**Espectro 39**). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 37,89; 58,41; 128,22; 129,70; 129,75; 132,45; 136,98; 140,63; 175,73; 197,18 (**Espectro 40**). **RMN¹³C (DEPT)** (75MHz, CDCl_3) δ (ppm): 37,89(-); 128,22(+); 129,70(-); 129,75(+); 132,45(+). (**Espectro 41**).

5.4.6.2 Através da acrilofenona 84b

Em uma mistura de 99mg (0,49mmol) da acrilofenona 84b e 10mL de THF-água (1:1) a temperatura ambiente e sob agitação magnética, adicionou-se 59mg (2,4mmol) de hidróxido de lítio (LiOH). Após 7 h de reação, adicionou-se uma solução de HCl 1N até obter-se pH2. Extraíu-se a acrilofenona com CH_2Cl_2 (3x15 mL) e secou-se a fase orgânica sob MgSO_4 . Evaporou-se o solvente sob pressão reduzida e purificou-se o óleo obtido por cromatografia em placa preparativa eluindo-se com sistema de solvente acetato de etila: hexano (10:90). Obteve-se 55mg (59%) de um óleo amarelo. **EM**: (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 190(M^+ ,3), 147(3), 131(2), 105(100), 77(47), 51(31).

5.4.7 Tentativa de síntese do 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenóico de metila 84a via HMTA/ Ac_2O .

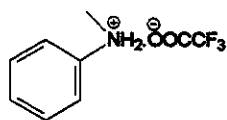
Em uma mistura de 0,222g (1mmol) da arilcetona 83a e 0,184g (18mmol) de anidro acético adicionou-se 0,196g (1,4mmol) de hexametilenotetramina e aqueceu-se a 80°C por

17h sob atmosfera de argônio e agitação magnética. Resfriou-se a mistura reacional até 30°C e à mesma adicionou-se 20mL de diclorometano/hidróxido de sódio 2N (1:1 v/v). Separou-se a fase orgânica, lavou-se com 5mL HCl 1N e secou-se sob MgSO₄. Após filtração e evaporação do solvente a pressão reduzida, obteve-se um produto na forma de um líquido viscoso marrom.

5.4.8 Tentativa de síntese do 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenato de metila **84a** via TAMA/formaldeído.

Em uma mistura de 0,550g (2,6mmol) do γ -cetoéster de **83a**, 0,113g (3,8mmol) de paraformaldeído e 6mL de dioxano (ou THF) anidro adicionou-se 0,560g (2,6mmol) de trifluoroacetato de *N*-metilanilínio (TAMA) e refluxou-se por 24h sob atmosfera de argônio e agitação magnética. Resfriou-se a mistura e adicionou-se 0,113g (3,8mmol) de paraformaldeído, 0,841g (3,9mmol) de TAMA e 5mL de dioxano (ou THF) anidro. Refluxou-se o meio reacional por mais 24h, então diluiu-se com pentano e água, extraiu-se com pentano, lavou-se com solução aquosa semi-saturada de NaHCO₃ e secou-se sob MgSO₄. Após filtração e concentração sob pressão reduzida, obteve-se um líquido que foi purificado por cromatografia em coluna (silica gel 60, 70-230 mesh) eluindo-se com sistema de solvente acetato de etila:hexano (30:70). Obteve-se um óleo viscoso marrom.

5.4.8.1 Síntese do trifluoroacetato de *N*-metilanilínio (TAMA).



Em um balão de fundo redondo, pesou-se 114g (1mol) de ácido trifluoroacético e sob agitação magnética a 0°C adicionou-se 107g

(1mol) de *N*-metilanilina gota a gota durante 1,5h. Filtrou-se o sólido e lavou-se com éter etílico anidro. Secou-se o sólido branco cristalino sob pressão reduzida e obteve-se 194g (88%) de um composto não deliquescente, que foi armazenado sob atmosfera de argônio.

5.5 Sínteses assimétricas biocatalisadas

5.5.1 Imobilização de fermento de pão em montmorilonita K10 (FPI)

A uma suspensão de 20g de montmorilonita K10 em 1L de água destilada a 30°C, adicionou-se 20g de fermento de pão liofilizado-Belga (N.V. Algis-Bruggeman S.A.). Agitou-se a mistura por 1h nesta temperatura e filtrou-se a vácuo. Suspendeu-se o resíduo em 200mL de solução aquosa de KCl 2% e manteve-se no refrigerador até o momento de sua utilização.

5.5.2 Procedimento geral para biotransformação com FPI em solução aquosa, Método A

A 100mL da suspensão de FPI adicionou-se, 10g açúcar comercial (ou cristal) e 1,5 g de CaCl_2 diidratado sob agitação mecânica a 37°C. Após 30 minutos, adicionou-se 1 mmol do substrato dissolvido em 1mL de álcool etílico absoluto ao meio de reação, o qual apresentou um pH 6. Conduziu-se a reação a 37°C e retirou-se alíquotas de 1mL periodicamente. Filtrou-se as alíquotas com celite e lavou-se com 10mL de acetato de etila. Adicionou-se NaCl para quebrar a emulsão, separou-se a fase orgânica e secou-se sob MgSO_4 . Após filtração, evaporou-se o solvente sob pressão reduzida e obteve-se um produto que foi analisado por CG/EM. Ao término da reação, adicionou-se 50mL de acetato de etila ao meio reacional, e manteve-se sob agitação a 37°C por 1h. Separou-se as células através de filtração à vácuo e extraiu-se com acetato de etila (3x15mL). Secou-se sob MgSO_4 e evaporou-se o solvente sob pressão reduzida, para obtenção do produto final, que foi purificado através de cromatografia em placa preparativa eluindo-se com sistema de solventes acetato de etila:hexano (10:90).

5.5.3 Procedimento geral para biotransformação com FPI em meio orgânico, Método B

Em uma mistura de 22g de fermento de pão liofilizado-Belga N.V. Algis-Bruggeman S.A., 7,7mL de água destilada e 200mL de éter de petróleo previamente passado em coluna de alumina neutra, adicionou-se 2mmol do substrato. Manteve-se a

mistura reacional sob agitação mecânica a temperatura ambiente por 24h. Adicionou-se 5mL de acetato de etila e em seguida filtrou-se a pressão reduzida. Separou-se a fase orgânica e extraiu-se a fase aquosa com acetato de etila (3x50mL). Juntou-se as frações orgânicas, secou-se sob MgSO_4 e evaporou-se sob pressão reduzida, para obtenção do produto final, que foi purificado através de cromatografia em placa preparativa eluindo-se com sistema de solventes acetato de etila:hexano (10:90).

5.5.4 *Reativação de fungos e bactérias liofilizadas e preparação de tubos agar-Slant*

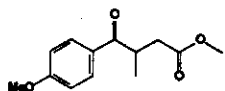
Abriu-se as ampolas contendo os fungos ou as bactérias com uma lima em câmara de fluxo laminar e hidratou-se as culturas com uma alíquota de 1mL de água destilada estéril. Transferiu-se o caldo contendo os fungos ou as bactérias para tubos de ensaio contendo 5mL de caldo nutriente NB (Difco) e incubou-se por 24h a 37°C em estufa. Fez-se inócuos em tubos contendo meio agar nutriente (NA Difco), e incubou-se os microorganismos por 24h a 37°C em estufa. Manteve-se os tubos em geladeira a 10-15°C. Para a manutenção das bactérias, executou-se transferências periódicas para um novo meio sólido.

5.5.5 *Procedimento geral para biotransformação com fungos e bactérias*

Pré-ativou-se os fungos ou as bactérias em meio nutriente (NB-Nutrient Broth-Difco) (50mL) por 24 h a 30°C. Transferiu-se as células para um erlenmeyer de 2 L contendo 1L de meio NB e agitou-se em incubadora shaker a 110 rpm 30°C por 17 h. Centrifugou-se as células por 30 minutos a 3000 rpm e transferiu-se para erlenmeyer de 125 mL contendo tampão fosfato PBS pH 7 (50mL). Adicionou-se os substratos dissolvidos em 1mL de etanol ao meio contendo as células na razão de substrato:célula 30:1 (p/p). Incubou-se a mistura a 30°C e 110 rpm. Após 48h de incubação, extraiu-se a mistura com acetato de etila, secou-se a fase orgânica sob MgSO_4 e evaporou-se o solvente sob pressão reduzida. O produto obtido foi purificado através de cromatografia em placa preparativa eluindo-se com sistema de solventes acetato de etila:hexano (10:90).

5.5.6 Preparação do (-)-4-(4-metoxifenil)-3-metil-4-oxo-butanoato de metila, 85a

5.5.6.1 Através de FPI em solvente aquoso



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.5.2, Método A, utilizou-se 234mg (1mmol) do derivado de acrilofenona 84a, e obteve-se 139mg (59%) de um óleo amarelo. IV (filme): 2927, 2853, 1738, 1679, 1600, 1461, 1379, 1244, 1170 cm^{-1} . (Espectro 42). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 236 (M^+ , 2), 205 (3), 135 (100), 107 (7), 92 (9), 77 (14), 64 (6), 41 (4) (Espectro 43). RMN^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 0,87 (d, $J=7,0\text{Hz}$, 1H), 2,38-2,42 (m, 1H), 2,96 (dd, $J=7,9\text{Hz}$, 2H), 3,65 (s, 3H), 3,88 (s, 3H), 6,95 (d, $J=8,8\text{Hz}$, 2H), 7,98 (d, $J=9,2\text{Hz}$, 2H) (Espectro 44). $[\alpha]_D -15$ (c 0,05 em CHCl_3)

5.5.6.2 Através de FPI em solvente orgânico

Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.5.3, Método B, utilizou-se 234mg (1mmol) do derivado de acrilofenona 84a, e obteve-se 180mg de um óleo amarelo (93% conversão).

EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 236(M^+ , 4), 205(6), 135(100), 107(13), 92(18), 77(26), 64(11), 41(7).

5.5.6.3 Através do Fungo *Rhizopus arrhizus* RA1547

Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.5.5, utilizou-se 20mg do derivado de acrilofenona 84a, e obteve-se 16mg (81%) de um óleo amarelo.

EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 236(M^+ , 2), 205(3), 135(100), 107(6), 92(9), 77(15), 64(7), 41(5).

$[\alpha]_D -14$ (c 0,01 em CHCl_3)

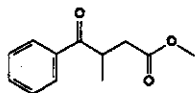
5.5.6.4 Através da Bactéria *Pseudomonas fluorescens*_CCT4056

Seguindo o procedimento geral descrito em 5.5.5, utilizou-se 20mg do derivado de acrilofenona **84a**, e obteve-se 14mg (69%, ee>99%) de um óleo amarelo.

EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 236(M⁺,4), 205(6), 135(100), 107(13), 92(18), 77(26), 64(11), 41(7).

[α]_D -67 (c0,02 em CHCl₃)

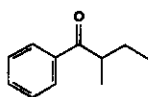
5.5.7 Preparação do (-)-4-fenil-3-metil-4-oxo-butanato de metila, **85b**



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.5.2, Método A, utilizou-se 204mg (1mmol) do derivado acrilofenona **84b**, e obteve-se 134mg (65%, ee=12%) de um óleo amarelo. IV (filme): 2923, 2953, 1738, 1687, 1597, 1464, 1347, 1174 cm⁻¹ (Espectro 45). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 206(M⁺,2), 175(4), 132(2), 105(100), 77(37), 51(17) (Espectro 46). RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0,99 (d, J=7,0Hz,3H), 2,35-2,37 (m,1H), 2,97 (dd, J=8,0Hz,2H), 3,65 (s,3H), 7,48 (t, J=7,7Hz,2H), 7,59 (t, J=7,1Hz,1H), 7,99 (d, J=7,0Hz,2H) (Espectro 47).

[α]_D -6 (c0,01 em CHCl₃)

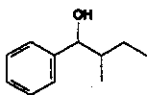
5.5.8 Preparação do (-)-2-metil-1-fenil-1-butanona, **85c**



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.5.2, Método A, utilizou-se 160mg (1mmol) do derivado de acrilofenona **84c**, e obteve-se 78mg (48%, ee=93%) de um óleo amarelo. EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 162(M⁺,7), 134(5), 105(100), 77(36), 51(17) (Espectro 48).

[α]_D -24 (c0,01 em CHCl₃)

5.5.9 Preparação do 1-fenil-2-metil-1-butanol, 86c

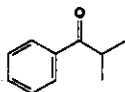


Produto obtido junto com a cetona **85b**. Após separação em placa preparativa, obteve-se 41 mg (25%) de óleo amarelo.

EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 164(M^+ ,3), 145(2), 131(2), 115(2), 107(100), 79(44), 57(7), 40(32) (Espectro 52).

5.5.10 Preparação do 1-fenil-2-metil-1-propanona, 85d

5.5.10.1 Atraves da FPI em solvente aquoso



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.5.2, Método A, utilizou-se 146mg (1mmol) da acrilofenona **84d**, e obteve-se 55 mg (37%) de um óleo amarelo. IV (filme) : 2926, 2854, 1742, 1465, 1374, 1240 cm^{-1} (Espectro 49). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 148(M^+ ,10), 105(100), 77(91), 51(70) (Espectro 50).

5.5.10.2 Através de FPI em solvente orgânico

Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.5.3, Método B, utilizou-se 292 mg (2mmol) da acrilofenona **84d**, e obteve-se 201 mg (68%) de um óleo amarelo.

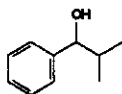
EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 148(M^+ ,13), 105(100), 77(50), 51(62).

5.5.10.3 Através do fungo *Rhizopus arrhizus* RA1547.

Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.5.5, utilizou-se 20 mg da acrilofenona **84d**, e obteve-se 14 mg de um óleo amarelo.

EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 148(M^+ ,9), 105(100), 77(39), 51(20).

5.5.11 Preparação do (-)-1-fenil-2-metil-1-propanol, 86d



Produto obtido junto com a cetona 85d (5.5.10.1). Após separação em placa preparativa, obteve-se 33mg (22%, ee=96%) de um óleo amarelo. IV (filme): 3600-3100, 1650, 1605, 1454, 1381, 1246 cm^{-1} (Espectro 53). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 150(M^+ ,9), 117(3), 107(100), 91(5), 79(70), 51(24) (Espectro 54). RMN^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 0,80 (d, $J=6,6\text{Hz}$, 3H), 1,00 (d, $J=6,6\text{Hz}$, 3H), 1,63 (s, 1H), 1,93-2,00 (m, 1H), 4,37 (d, $J=7,0\text{Hz}$, 1H), 7,26-7,35 (m, 5H) (Espectro 55). $[\alpha]_D -27$ (c0,01 em CHCl_3)

5.5.12 Tentativa de biorredução da γ -cetoéster, 83a

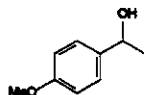
5.5.12.1 Através do fungo *Rhizopus arrhizus* RA1547.

Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.5.5, utilizou-se 20 mg do γ -cetoéster 83a, e não observou-se qualquer traço de biorredução da carbonila.

5.5.12.2 Através da bactéria *Pseudomona fluorescens* CCT4056.

Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.5.5, utilizou-se 20 mg do γ -cetoéster 83a, e não observou-se qualquer traço de biorredução da carbonila.

5.5.13 Preparação do 1-(4-metoxifenil)-1-etanol

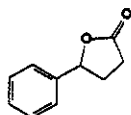


Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.5.2, Método A, utilizou-se 165 mg (1,1mmol) da *para*-metoxiacetofenona, e obteve-se após 100h, 73mg (3% de biorredução ao álcool) de um óleo amarelo. EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 152(M^+ ,14), 137(53), 109(40), 94(24), 77(33), 65(16), 43(100) (Espectro 56).

5.5.14 Tentativa de biorredução do 3-(4-metoxibenzoil)-propionato de metila, 83a

Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.5.2, Método A, utilizou-se 222 mg (1mmol) do γ -cetoéster 83a, e não observou-se qualquer traço de biorredução da carbonila após 168h.

5.5.15 Preparação da 5-feniltetraidro-2-furanona, 87b

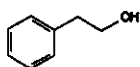


Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.5.2, Método A, utilizou-se 178 mg (1mmol) da arilcetona 82b, e obteve-se após 19h,

108 mg (67% ee = 94%) de um óleo amarelo. IV (filme): 2923, 1775, 1457, 1177, 1143 cm^{-1} (Espectro 57). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 162(M^+ ,53), 133(2), 117(33), 107(62), 91(17), 77(32), 56(100) (Espectro 58). RMN^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1,23-1,31 (m, 2H), 2,62-2,68 (m,2H), 5,51 (dd, $J=6,2\text{Hz}$, 1H), 7,37-7,40 (m,5H) (Espectro 59).

$[\alpha]_D -34$ (c0,02 em CHCl_3)

5.5.16 Preparação do 2-fenil-1-etanol, 88



Produto obtido junto com a lactona 87b (5.5.15). Após a separação em placa preparativa, obteve-se 12 mg (10%) de um óleo amarelo.

EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 122(M^+ ,25), 103(3), 91(100), 77(6), 65(25), 51(15) (Espectro 60).

5.5.17 Tentativa de biorredução do ácido 3-benzoil-3-butenóico, 84e

Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.5.2, Método A, utilizou-se 190 mg (1mmol) do derivado de acrilofenona 84e, e obteve-se 11 mg de um óleo amarelo correspondente a uma mistura de difícil interpretação. EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.): 192(M^+ ,1), 175(21), 132(6), 115(3), 105(100), 91(3), 77(100), 55(4), 51(54) (Espectro 51).

5.6 Hidrogenações Catalisadas por Complexos de Rutênio

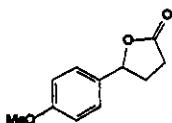
5.6.1 Procedimento geral

Em uma auto-clave colocou-se 1 mmol do substrato com o sólido $[\text{RuCl}_2(\text{BINAP})]_2 \cdot \text{NEt}_3$ e manteve-se sob atmosfera de argônio. Adicionou-se 10 mL de metanol desgaseificado, conforme item 5.6.1.1, e sob agitação trocou-se a atmosfera de argônio por hidrogênio. Aumentou-se a pressão de hidrogênio para 100 atm e agitou-se a solução por 48 a 250h. Secou-se a solução sob MgSO_4 e sob pressão reduzida removeu-se o solvente.

5.6.1.1 Desgaseificação de metanol

Em um balão de fundo redondo colocou-se 300 mL de metanol anidro e mantendo o sistema sob atmosfera de argônio, resfriou-se o solvente até o seu congelamento. A atmosfera de argônio foi trocada por aplicação de vácuo e permitiu-se o descongelamento do solvente para desprendimento do oxigênio. Aplicou-se novamente uma atmosfera de argônio e repetiu-se o ciclo até não mais desprender oxigênio do solvente.

5.6.2 Preparação da 5-(4-metoxifenil)tetraidro-2-furanona, 87a

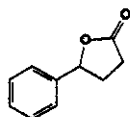


Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.6.1, utilizou-se 41 mg (0,2mmol) do γ -cetoéster 83a e 3 mg (1mol%) do R-BINAP-Ru.

Após 71h de reação, obteve-se um líquido amarelo correspondendo a apenas 4% de conversão. EMI (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 192(M^+ ,12), 147(6), 137(13), 77(8), 56(100), 51(21).

5.6.3 Preparação da 5-feniltetraidro-2-furanona, 87b

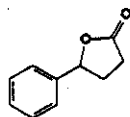
5.6.3.1 Através do S-BINAP-Ru



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.6.1, utilizou-se 60 mg (0,3mmol) do γ -cetoéster **83b** e 18 mg (4mol%) do S-BINAP-Ru.

Com 250h de reação, obteve-se um líquido amarelo correspondendo a 9% de conversão. EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 162(M^+ ,58), 133(2), 117(27), 107(62), 91(14), 77(35), 56(100), 51(42).

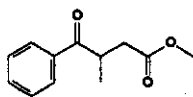
5.6.3.2 Através do R-BINAP-Ru



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.6.1, utilizou-se 40 mg (0,2mmol) do γ -cetoéster **83b** e 30 mg (10mol%) do S-BINAP-

Ru. Com 48h de reação, obteve-se um líquido amarelo correspondendo a 7% de conversão. EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 162(M^+ ,37), 133(2), 117(23), 107(62), 91(11), 77(35), 56(100), 51(37).

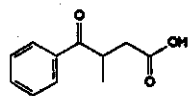
5.6.4 Preparação do 3-metil-4-fenil-4-oxo-butanoato de metila, 85b



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.6.1, utilizou-se 20 mg (0,1mmol) do γ -cetoéster **83b** e 24 mg (16mol%) do R-BINAP-

Ru. Com 66h de reação, obteve-se um líquido amarelo correspondendo a 93% de redução da ligação dupla (20% ee). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 206(M^+ ,2), 175(4), 132(2), 105(100), 77(37), 51(17).

5.6.5 Preparação do ácido 4-fenil-3-metil-4-oxo-butanóico, 85e



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.6.1, utilizou-se 21 mg (0,1mmol) do γ -cetoácido **83e** e 12 mg (8mol%) do R-BINAP-Ru.

Com 90h de reação, obteve-se um líquido amarelo correspondendo a 49% de redução da ligação dupla (44% ee). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 192(M^+ ,1), 175(21), 132(6), 115(3), 105(100), 91(3), 77(100), 55(4), 51(54) (**Espectro 51**).

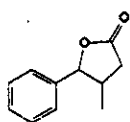
5.7 Reduções com hidretos de boro

5.7.1 Procedimento geral

Em um balão de fundo redondo dissolveu-se 1 mmol do γ -cetoéster em 10 mL de metanol. A temperatura foi diminuída e sob agitação magnética adicionou-se o hidreto de boro. A mistura permaneceu sob agitação por 50 minutos, e então verteu-se a mesma em 1 mL de HCl 1N com posterior adição de água. Extraíu-se com acetato de etila (2x10 mL) e secou-se a fase orgânica sob $MgSO_4$. Evaporou-se o solvente sob pressão reduzida e purificou-se o óleo em placa preparativa eluindo-se com sistema de solventes acetato de etila:hexano (10:90).

5.7.2 Síntese da 5-fenil-4-metil-tetraidro-2-furanona, 89

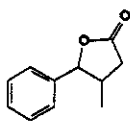
5.7.2.1 Através de boroidreto de sódio



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.7.1, utilizou-se 20 mg (0,1mmol) do γ -cetoéster **85b** e 4 mg (0,1mmol-1eq.) de

boroidreto de sódio. Obteve-se um óleo amarelo. *syn*-**89**: IV (filme) : 2923, 1784, 1731, 1455, 1418, 1280, 1216 cm^{-1} (**Espectro 61**). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 176(M^+ ,27), 131(5), 115(10), 107(74), 91(10), 77(29), 63(7), 42(100) (**Espectro 62**). RMN^1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 1,22 (d, $J=6,4Hz$, 3H), 2,32-2,39 (m, 1H), 2,79 (dd, $J=7,4Hz$), 4,95 (d, $J=5,0Hz$, 1H), 7,34-7,39 (m, 2H) (**Espectro 63**). *anti*-**89**: IV (filme) : 2954, 1714, 1415, 1294 cm^{-1} (**Espectro 64**). EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 176(M^+ ,29), 158(4), 131(5), 115(6), 107(85), 91(8), 77(31), 63(5), 42(100) (**Espectro 65**). RMN^1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 1,20 (d, $J=6,6Hz$, 3H), 2,42-2,48 (m, 1H), 2,80 (dd, $J=7,3Hz$), 4,94 (d, $J=8,4Hz$, 1H), 7,33-7,38(m, 2H) (**Espectro 66**).

5.7.2.2 Através de boroidreto de tetrabutilamônio.



Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.7.1, utilizou-se 20mg (0,1mmol) do γ -cetoéster **85b** e (0,1mmol-1eq.) de boroidreto de tetrabutilamônio. Este último foi utilizado em sua forma comercial ou preparado *in situ* em um balão de fundo redondo, através da reação entre 0,145mmol de iodeto de tetrabutilamônio e 4mg (0,1mmol-1eq.) de boroidreto de sódio em THF a 0°C sob agitação magnética por 4h. Neste caso a adição do boroidreto de tetrabutilamônio foi feita através de canula e obteve-se um líquido amarelo. Dados espectroscópicos descritos em 5.7.2.1.

5.7.3 Tentativa de redução do derivado de acrilofenona **84b**

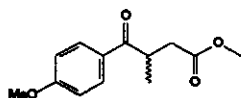
Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.7.1, utilizou-se 20mg (0,1mmol) do derivado de acrilofenona **84b** e 4mg (0,1mmol-1eq.) de boroidreto de sódio. Obteve-se uma mistura de difícil interpretação.

5.8 Sínteses das cetonas e dos álcoois racêmicos

5.8.1 Preparação das cetonas saturadas racêmicas **85a, b, c, d e e**

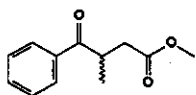
5.8.1.1 Procedimento geral

Colocou-se uma mistura do γ -cetoéster **84**, paládio (10%) suportado em carvão (5 mol % de Pd) e metanol (10 mL) na auto-clave e manteve-se sob atmosfera de hidrogênio. A mistura reacional foi pressurizada até 1 atm com H₂ e mantida sob agitação magnética durante 10 minutos. Após despressurização da auto-clave, filtrou-se a solução obtida e o filtrado foi seco sob MgSO₄, seguido de nova filtração.

5.8.1.2 Preparação do ($\pm$)-4-(4-metoxifenil)-3-metil-4-oxo-butanato de metila, 85a

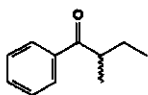
Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.8.1.1, utilizou-se 23 mg (0,1mmol) do γ -cetoéster 84a, e obteve-se um líquido amarelo.

EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 236(M^+ ,2), 205(3), 135(100), 107(7), 92(9), 77(14), 64(6), 41(4).

5.8.1.3 Preparação do ($\pm$)-4-fenil-3-metil-4-oxo-butanato de metila, 85b

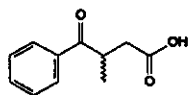
Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.8.1.1, utilizou-se 20 mg (0,1mmol) do γ -cetoéster 84b, e obteve-se um líquido amarelo.

EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 266(M^+ ,2), 175(4), 132(2), 105(100), 77(40), 59(5), 51(19).

5.8.1.4 Preparação da ($\pm$)-1-fenil-2-metil-1-butanona, 85c

Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.8.1.1, utilizou-se 16 mg (0,1mmol) do γ -cetoéster 84c, e obteve-se um líquido amarelo.

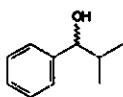
EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 162(M^+ ,7), 134(5), 105(100), 77(36), 51(17).

5.8.1.5 Preparação do ácido ($\pm$)-4-fenil-3-metil-4-oxo-butanóico, 85e

Seguindo-se o procedimento geral descrito em 5.8.1.1, utilizou-se 19 mg (0,1mmol) do γ -cetoéster 84e, e obteve-se um líquido amarelo.

EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 206(M^+ ,2), 175(4), 132(2), 105(100), 77(37), 51(17).

5.8.2 Preparação do ($\pm$)-1-fenil-2-metil-1-propanol, 86d



Dissolveu-se 16 mg (0,1mmol) da cetona saturada 85d em 2 mL de álcool etílico e resfriou-se a solução até -78°C . Adicionou-se lentamente e sob agitação magnética 1 eq. de boroidreto de sódio. A mistura permaneceu nesta temperatura por 30 minutos e em seguida, água e HCl diluído foram adicionados. Extraíu-se com diclorometano (3x5 mL) e secou-se a fase orgânica sob MgSO_4 , seguido de nova filtração, obteve-se um líquido amarelo. EM (I.E. 70 eV) m/z (int.rel.) : 150(M^+ ,9), 117(3), 107(100), 91(5), 79(70), 51(24).

5.9 Determinação da pureza enantiomérica

Os excessos enantioméricos, ee, das cetonas saturadas 85 e do álcool 86, obtidos nas etapas descritas nos itens 5.5 e 5.6, foram determinados através de cromatografia gasosa com fase estacionária quiral de (-)- β -ciclo-dextrina, conforme exemplificado pela sobreposição dos cromatogramas dos compostos racêmico e enantiomericamente enriquecido (Figura 5.1).

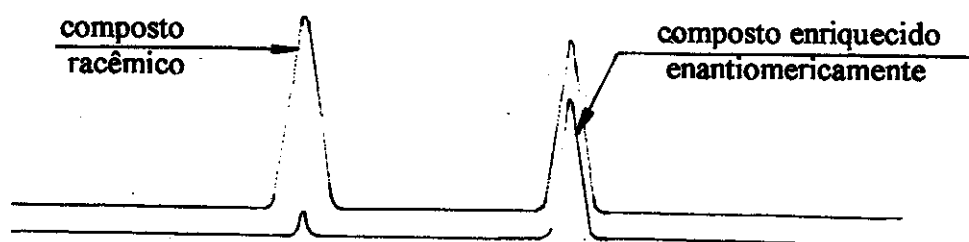


Figura 5.1. Sobreposição de cromatogramas

Com os dados obtidos nos cromatogramas, calculou-se os valores para os excessos enantioméricos usando a equação:

$$ee = \frac{\%R - \%S}{\%R + \%S}$$

onde %R e %S são as percentagens dos isômeros quirais, independentemente da configuração absoluta.

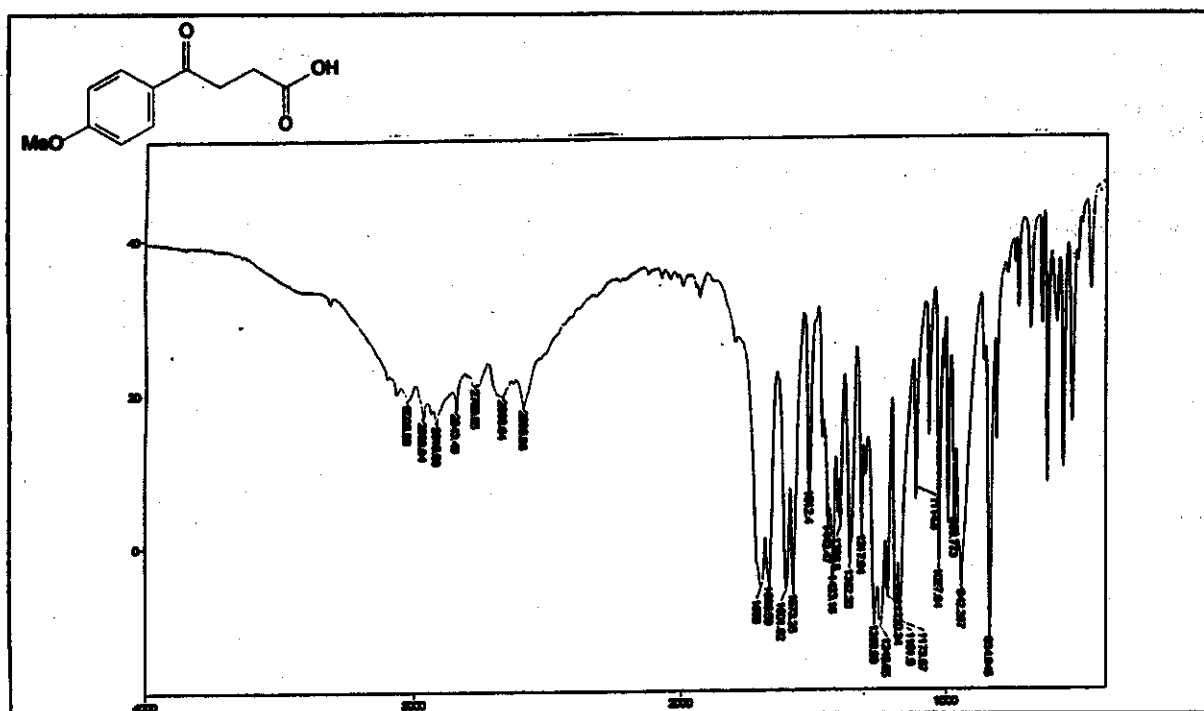
6 – ESPECTROS

Índice de Espectros

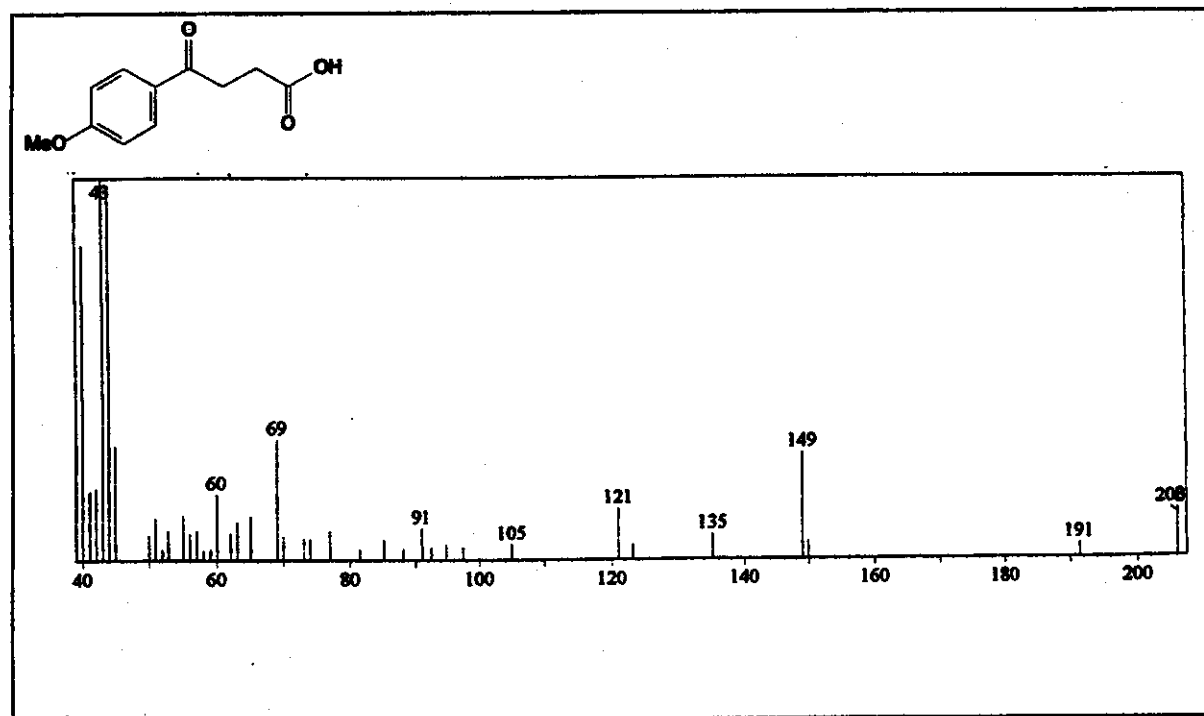
Espectro 01 : IV do ácido 3-(4-metoxibenzoil)-propiónico, 82a	111
Espectro 02 : EM do ácido 3-(4-metoxibenzoil)-propiónico, 82a	111
Espectro 03 : RMN ¹ H do ácido 3-(4-metoxibenzoil)-propiónico, 82a	112
Espectro 04 : IV do ácido 3-benzoil-propiónico, 82b	112
Espectro 05 : EM do ácido 3-benzoil-propiónico, 82b	113
Espectro 06 : RMN ¹ H do ácido 3-benzoil-propiónico, 82b	113
Espectro 07 : IV da butirofenona, 82c	114
Espectro 08 : EM da butirofenona, 82c	114
Espectro 09 : RMN ¹ H da butirofenona, 82c	115
Espectro 10 : IV do 3-(4-metoxibenzoil)-propionato de metila, 83a	115
Espectro 11 : EM do 3-(4-metoxibenzoil)-propionato de metila, 83a	116
Espectro 12 : RMN ¹ H do 3-(4-metoxibenzoil)-propionato de metila, 83a	116
Espectro 13 : RMN ¹³ C do 3-(4-metoxibenzoil)-propionato de metila, 83a	117
Espectro 14 : IV do 3-benzoil-propionato de metila, 83b	117
Espectro 15 : EM do 3-benzoil-propionato de metila, 83b	118
Espectro 16 : RMN ¹ H do 3-benzoil-propionato de metila, 83b	118
Espectro 17 : IV do 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenato de metila, 84a	119
Espectro 18 : EM do 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenato de metila, 84a	119
Espectro 19 : RMN ¹ H do 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenato de metila, 84a	120
Espectro 20 : RMN ¹³ C do 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenato de metila, 84a	120
Espectro 21 : RMN ¹³ C (DEPT) 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenato de metila, 84a ..	121
Espectro 22 : IV do 3-benzoil-3-butenato de metila, 84b	121
Espectro 23 : EM do 3-benzoil-3-butenato de metila, 84b	122
Espectro 24 : RMN ¹ H do 3-benzoil-3-butenato de metila, 84b	122
Espectro 25 : RMN ¹³ C do 3-benzoil-3-butenato de metila, 84b	123
Espectro 26 : RMN ¹³ C (DEPT) do 3-benzoil-3-butenato de metila, 84b	123
Espectro 27 : IV do 2-benzoil-1-buteno, 84c	124
Espectro 28 : EM do 2-benzoil-1-buteno, 84c	124
Espectro 29 : RMN ¹ H do 2-benzoil-1-buteno, 84c	125
Espectro 30 : RMN ¹³ C do 2-benzoil-1-buteno, 84c	125

Espectro 31 : RMN¹³C (DEPT) do 2-benzoil-1-butenol, 84c	126
Espectro 32 : IV do 2-benzoil-propeno, 84d	126
Espectro 33 : EM do 2-benzoil-propeno, 84d	127
Espectro 34 : RMN¹H do 2-benzoil-propeno, 84d	127
Espectro 35 : RMN¹³C do 2-benzoil-propeno, 84d	128
Espectro 36 : RMN¹³C (DEPT) do 2-benzoil-propeno, 84d	128
Espectro 37 : IV do ácido 3-benzoil-3-butenóico, 84e	129
Espectro 38 : EM do ácido 3-benzoil-3-butenóico, 84e	129
Espectro 39 : RMN¹H do ácido 3-benzoil-3-butenóico, 84e	130
Espectro 40 : RMN¹³C do ácido 3-benzoil-3-butenóico, 84e	130
Espectro 41 : RMN¹³C (DEPT) do ácido 3-benzoil-3-butenóico, 84e	131
Espectro 42 : IV do 4-(4-metoxifenil)-3-metil-4-oxo-butanoato de metila, 85a	131
Espectro 43 : EM do 4-(4-metoxifenil)-3-metil-4-oxo-butanoato de metila, 85a	132
Espectro 44 : RMN¹H do 4-(4-metoxifenil)-3-metil-4-oxo-butanoato de metila, 85a	132
Espectro 45 : IV do 4-fenil-3-metil-4-oxo-butanoato de metila, 85b	133
Espectro 46 : EM do 4-fenil-3-metil-4-oxo-butanoato de metila, 85b	133
Espectro 47 : RMN¹H do 4-fenil-3-metil-4-oxo-butanoato de metila, 85b	134
Espectro 48 : EM do 1-fenil-2-metil-1-butanona, 85c	134
Espectro 49 : IV da 1-fenil-2-metil propanona, 85d	135
Espectro 50 : EM da , 1-fenil-2-metil propanona, 85d	135
Espectro 51 : EM do ácido 4-fenil-3-metil-4-oxo-butanóico, 85e	136
Espectro 52 : EM do 1-fenil-2-metil-1-butanol, 86c	136
Espectro 53 : IV do 1-fenil-2-metil-1-propanol, 86d	137
Espectro 54 : EM do 1-fenil-2-metil-1-propanol, 86d	137
Espectro 55 : RMN¹H do 1-fenil-2-metil-1-propanol, 86d	138
Espectro 56 : EM do 1-(4-metoxifenil)-1-etanol	138
Espectro 57 : IV da 5-feniltetraidro-2-furanona, 87b	139
Espectro 58 : EM da 5-feniltetraidro-2-furanona, 87b	139
Espectro 59 : RMN¹H da 5-feniltetraidro-2-furanona, 87b	140
Espectro 60 : EM do 3-fenil-1-propanol, 88	140
Espectro 61 : IV da <i>syn</i>-5-fenil-4-metil-tetraidro-2-furanona, <i>syn</i>-89	141

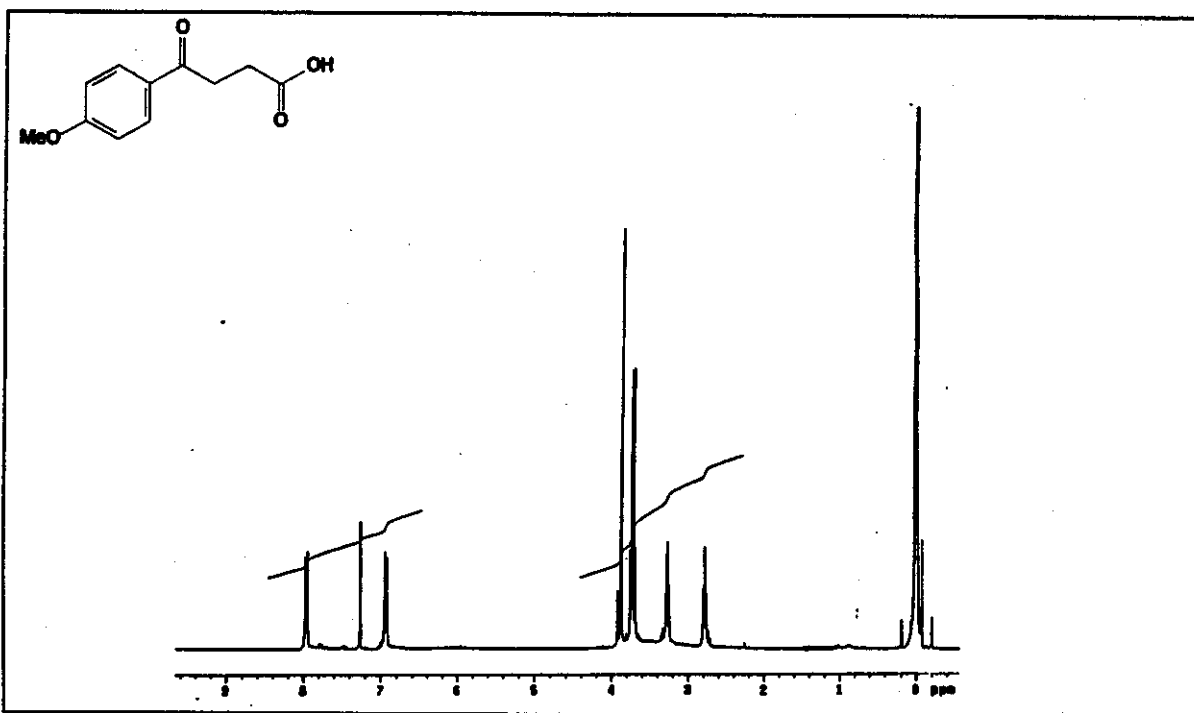
Espectro 62 : EM da <i>syn</i> -5-fenil-4-metil-tetraidro-2-furanona, <i>syn</i> -89	141
Espectro 63 : RMN ¹ H da <i>syn</i> -5-fenil-4-metil-tetraidro-2-furanona, <i>syn</i> -89	142
Espectro 64 : IV da <i>anti</i> -5-fenil-4-metil-tetraidro-2-furanona, <i>anti</i> -89	142
Espectro 65 : EM da <i>anti</i> -5-fenil-4-metil-tetraidro-2-furanona, <i>anti</i> -89	143
Espectro 66 : RMN ¹ H da <i>anti</i> -5-fenil-4-metil-tetraidro-2-furanona, <i>anti</i> -89	143



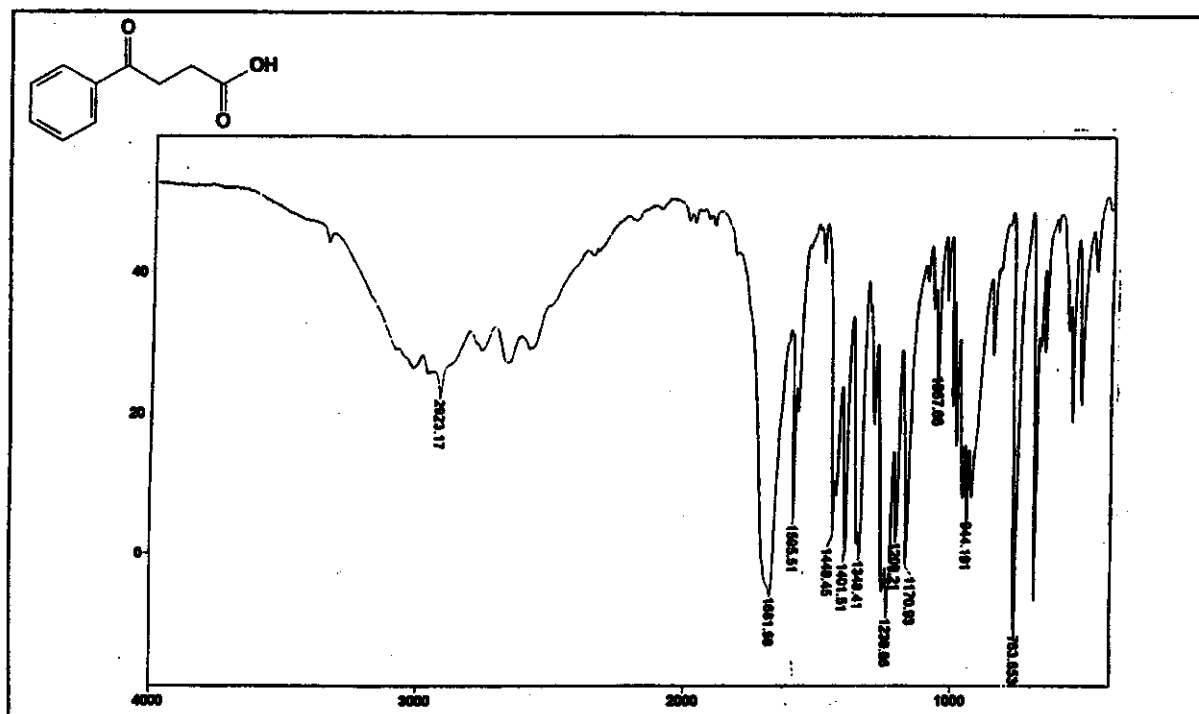
Espectro 01 : IV do ácido 3-(4-metoxibenzoil)-propiónico, 82a



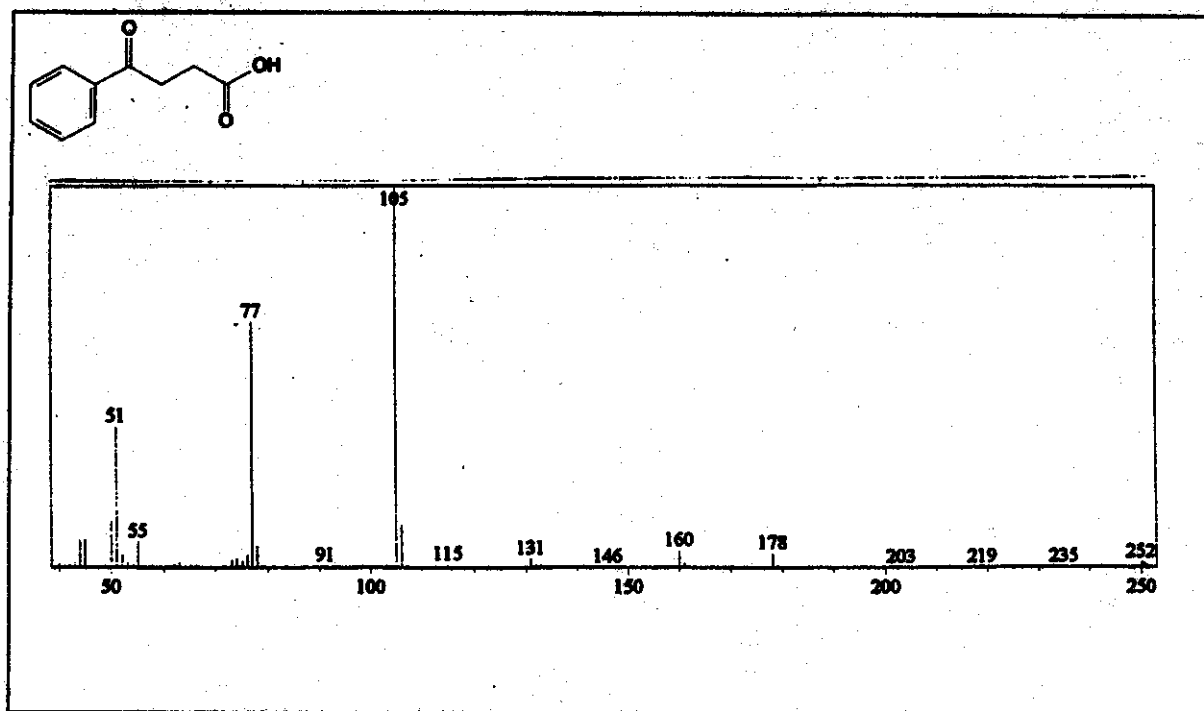
Espectro 02 : EM do ácido 3-(4-metoxibenzoil)-propiónico, 82a



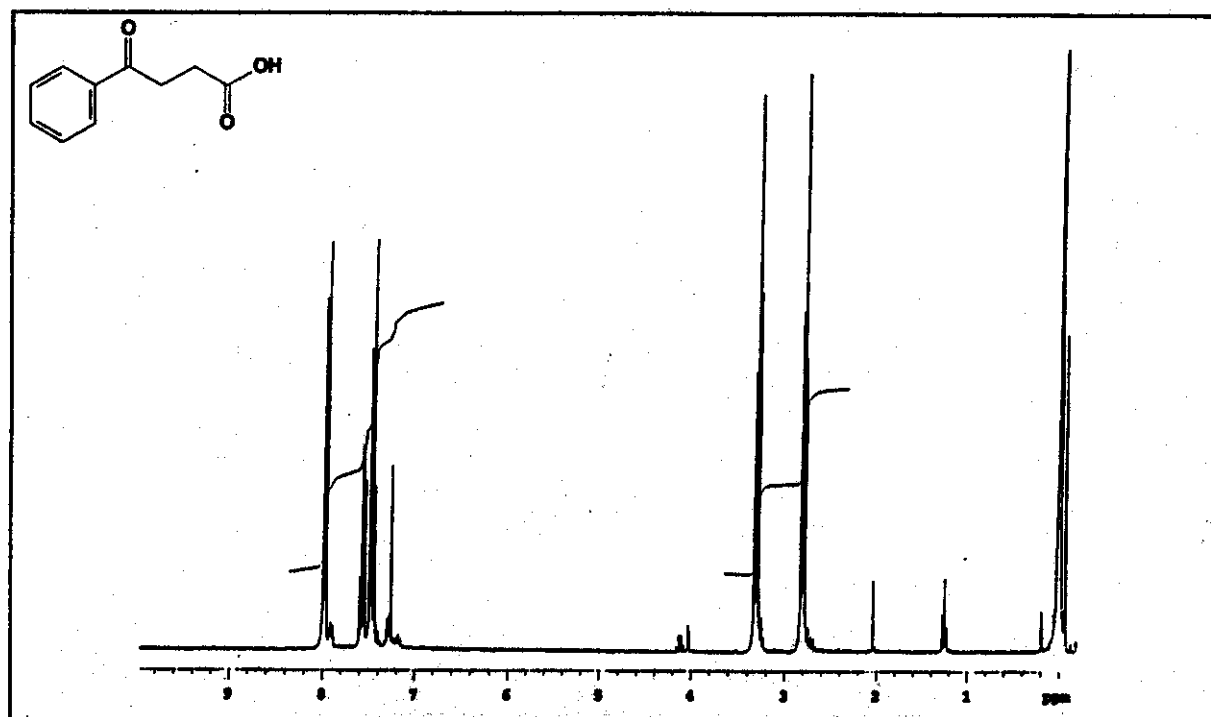
Espectro 03 : RMN¹H do ácido 3-(4-metoxibenzoil)-propiónico, 82a



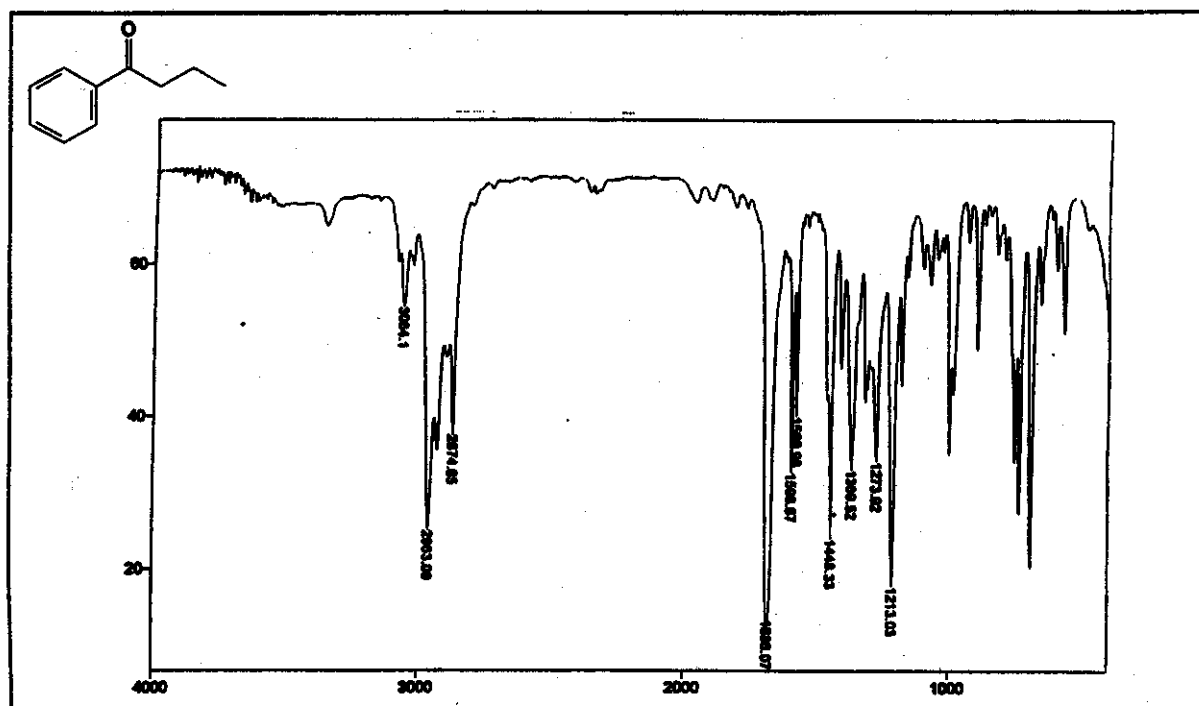
Espectro 04 : IV do ácido 3-benzoil-propiónico, 82b



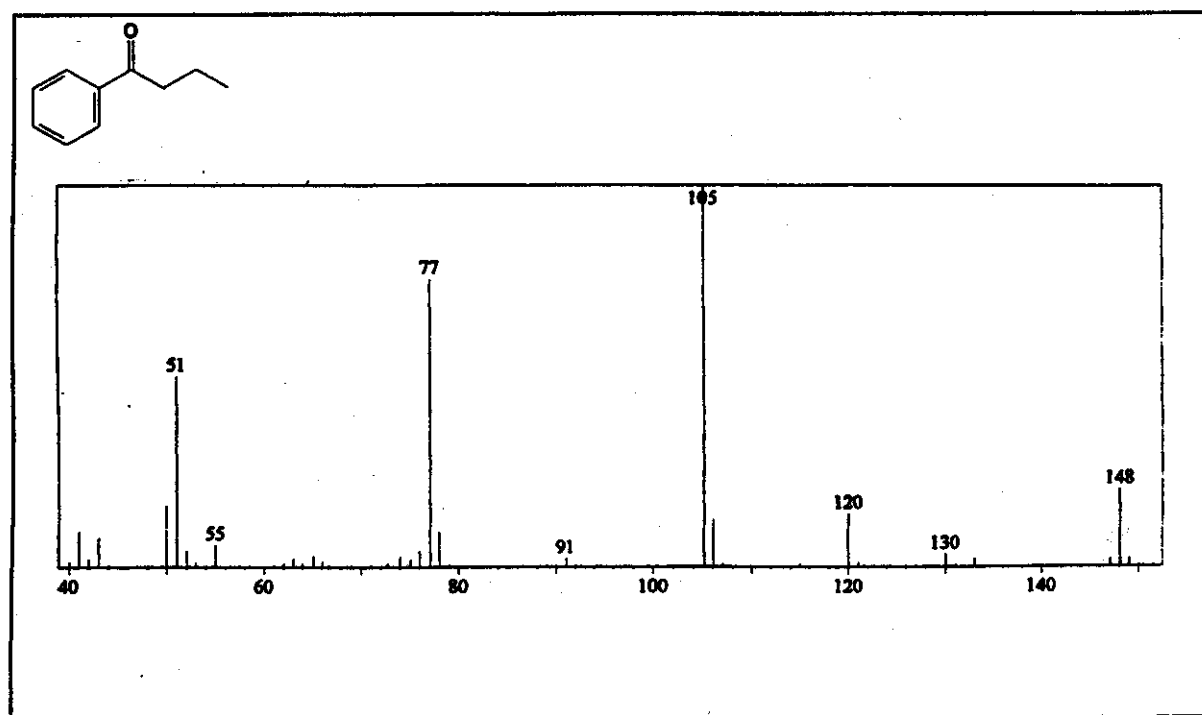
Espectro 05 : EM do ácido 3-benzoil-propiónico, 82b



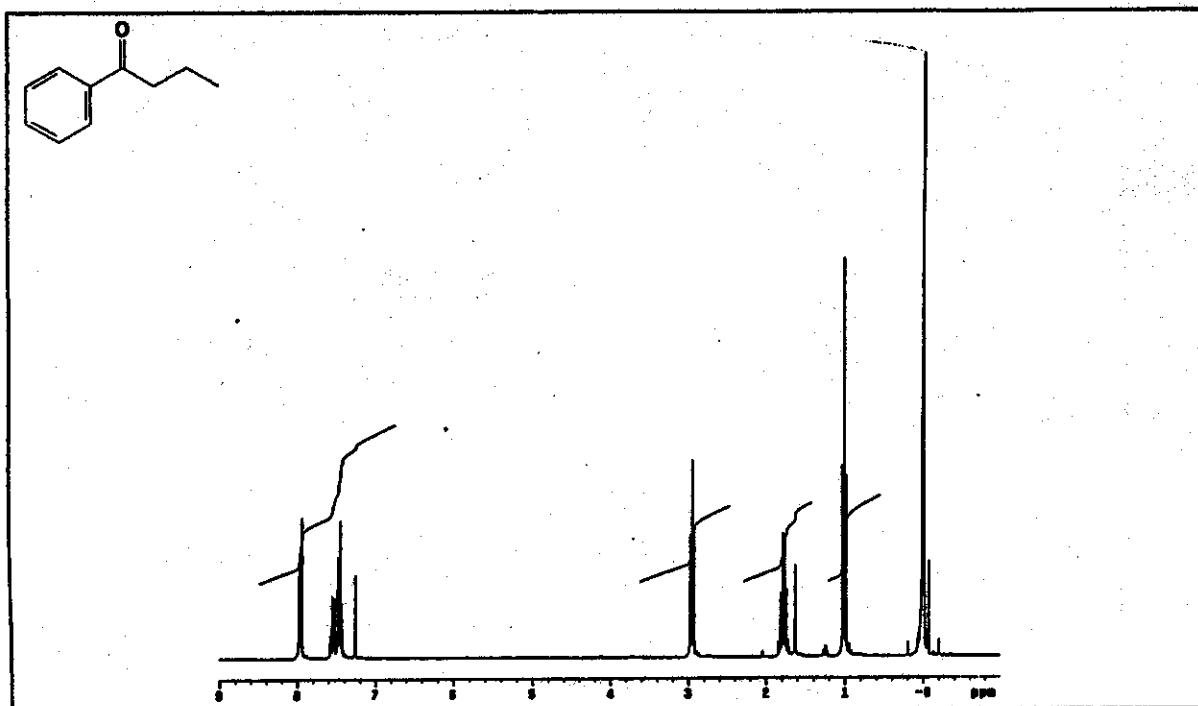
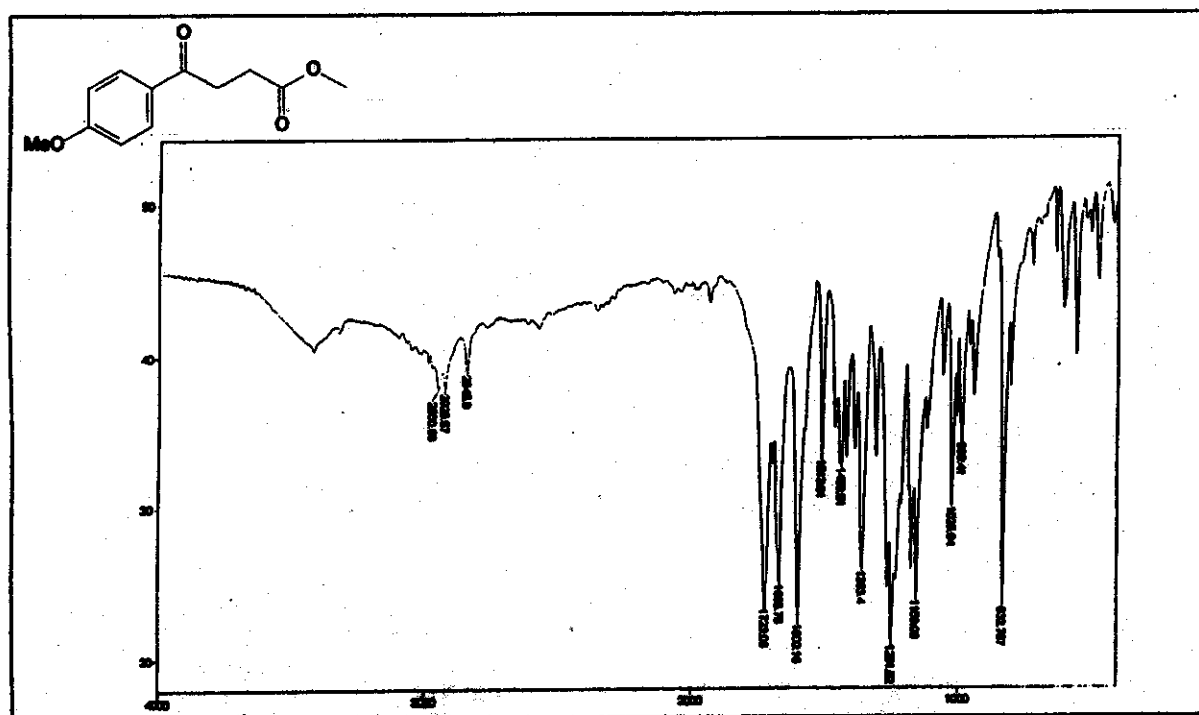
Espectro 06 : RMN ^1H do ácido 3-benzoil-propiónico, 82b



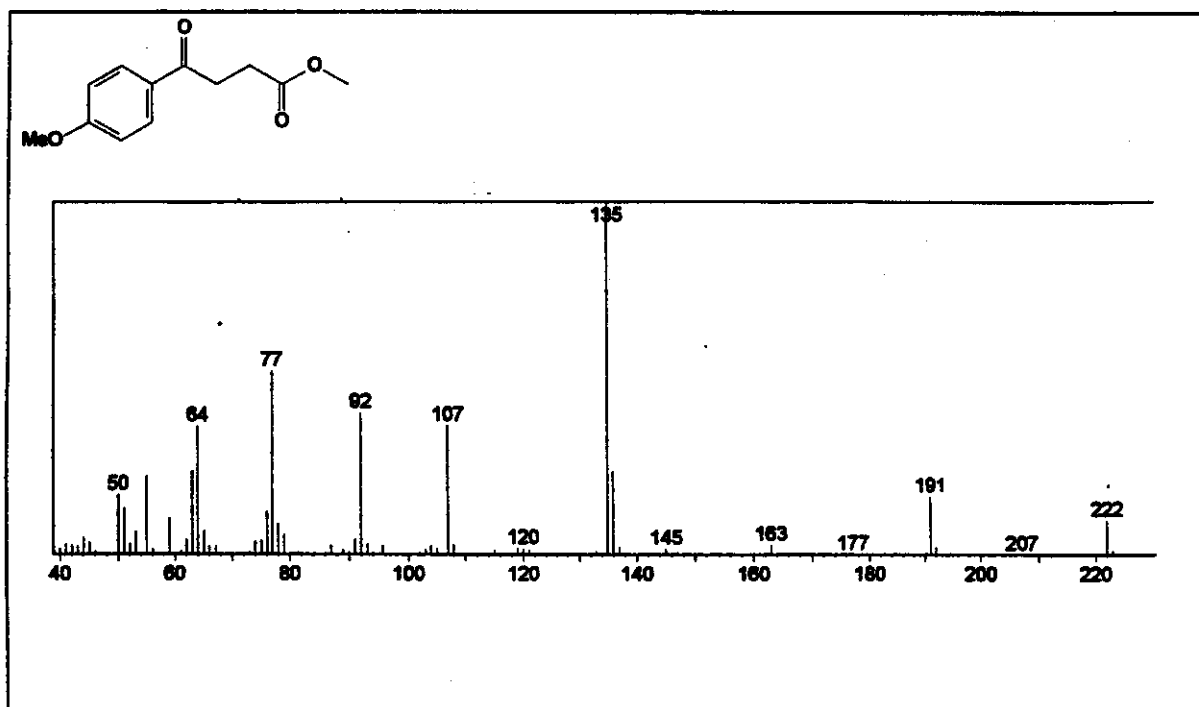
Espectro 07 : IV da butirofenona, 82c



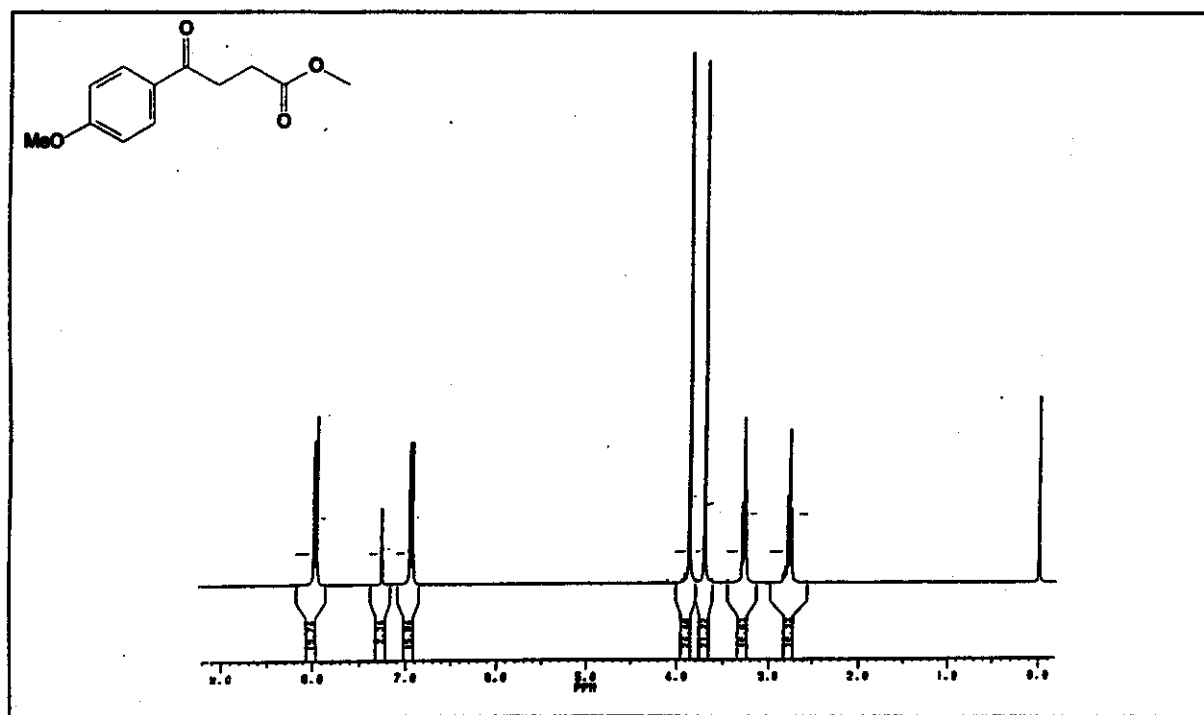
Espectro 08 : EM da butirofenona, 82c

Espectro 09 : RMN ^1H da butirofenona, 82c

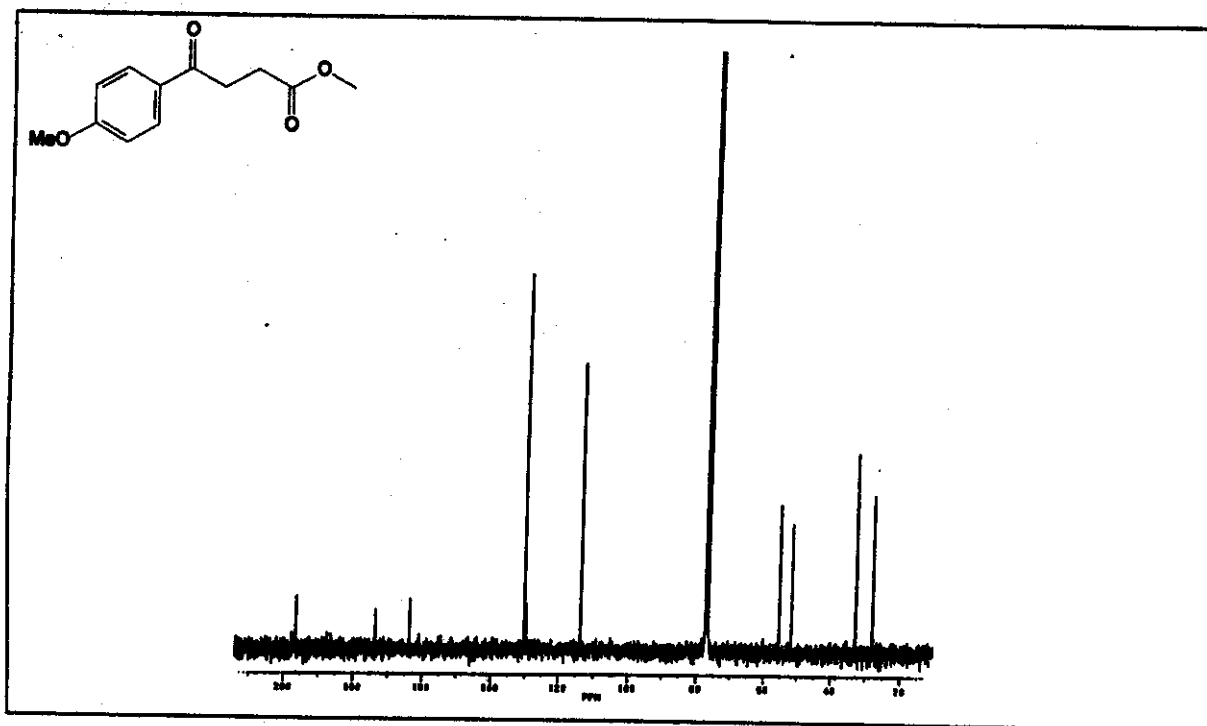
Espectro 10 : IV do 3-(4-metoxibenzoil)-propionato de metila, 83a



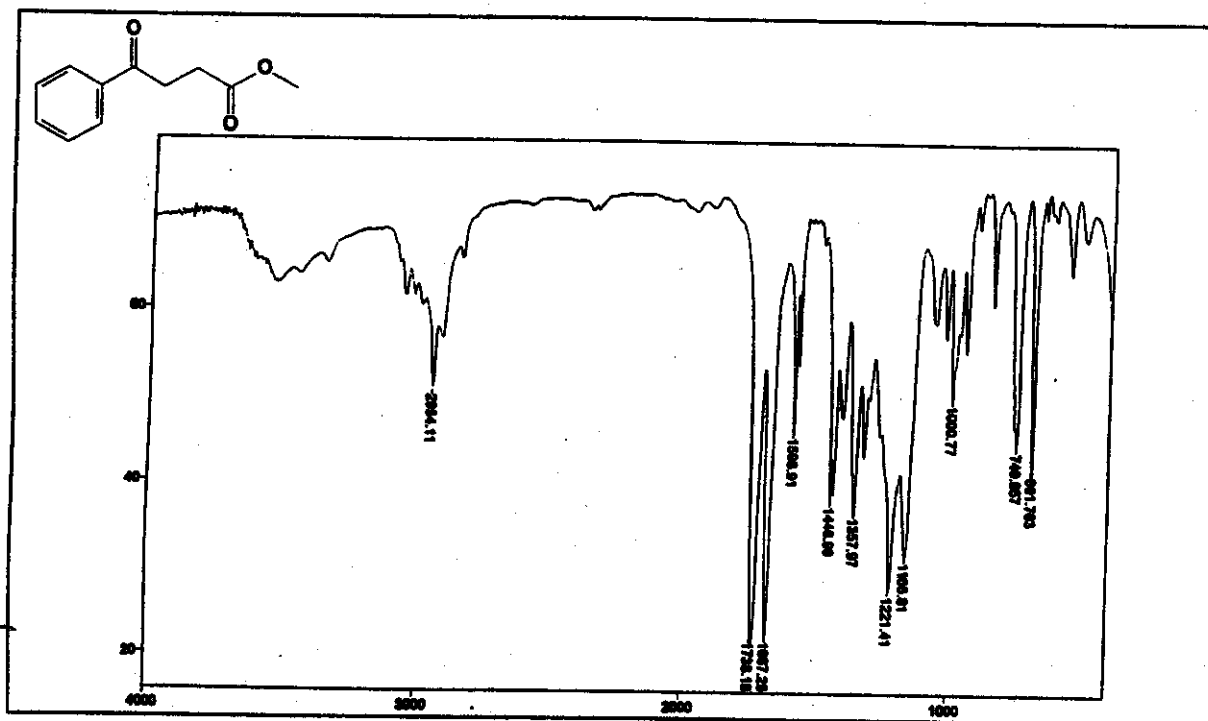
Espectro 11 : EM do 3-(4-metoxibenzoil)-propionato de metila, 83a



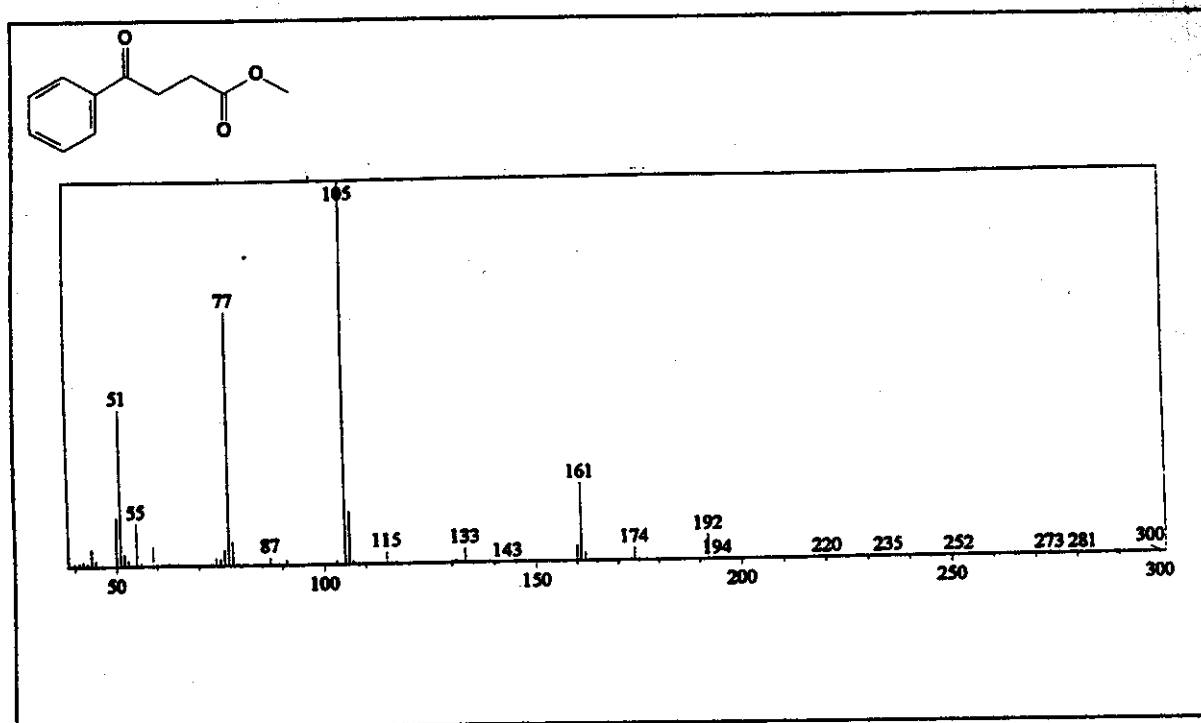
Espectro 12 : RMN ^1H do 3-(4-metoxibenzoil)-propionato de metila, 83a



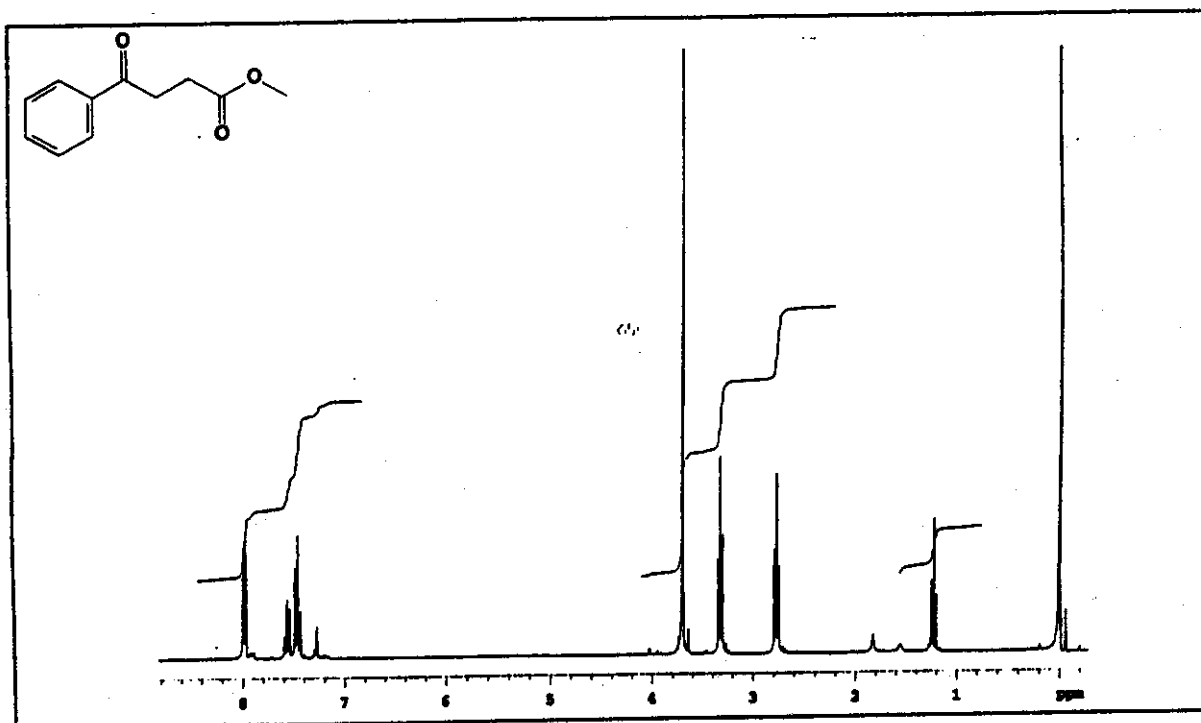
Espectro 13 : RMN ^{13}C do 3-(4-metoxibenzoil)-propionato de metila, 83a



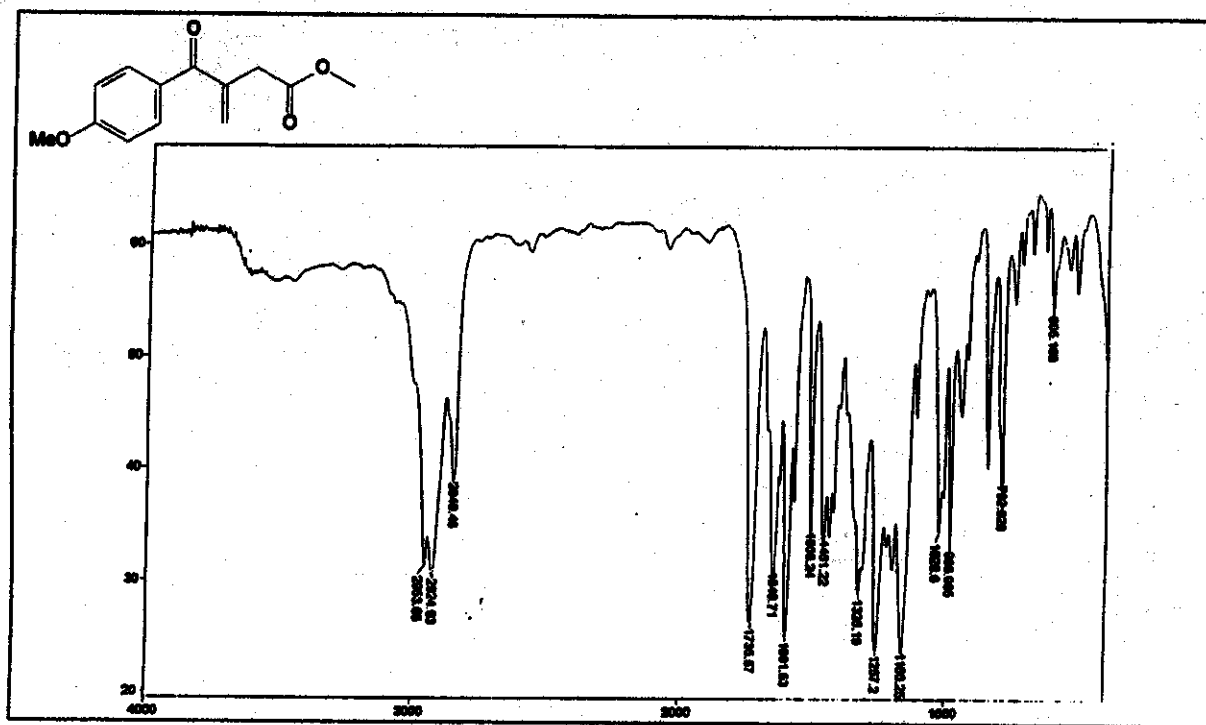
Espectro 14 : IV do 3-benzoil-propionato de metila, 83b



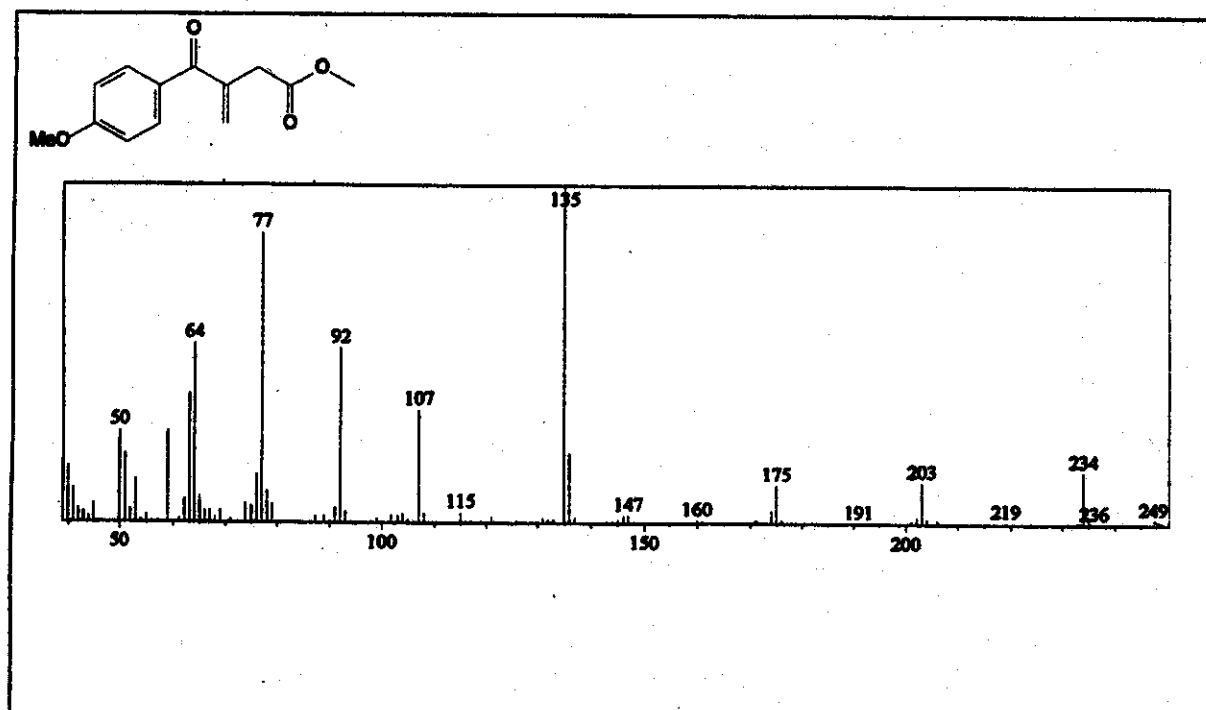
Espectro 15 : EM do 3-benzoil-propionato de metila, 83b



Espectro 16 : RMN¹H do 3-benzoil-propionato de metila, 83b



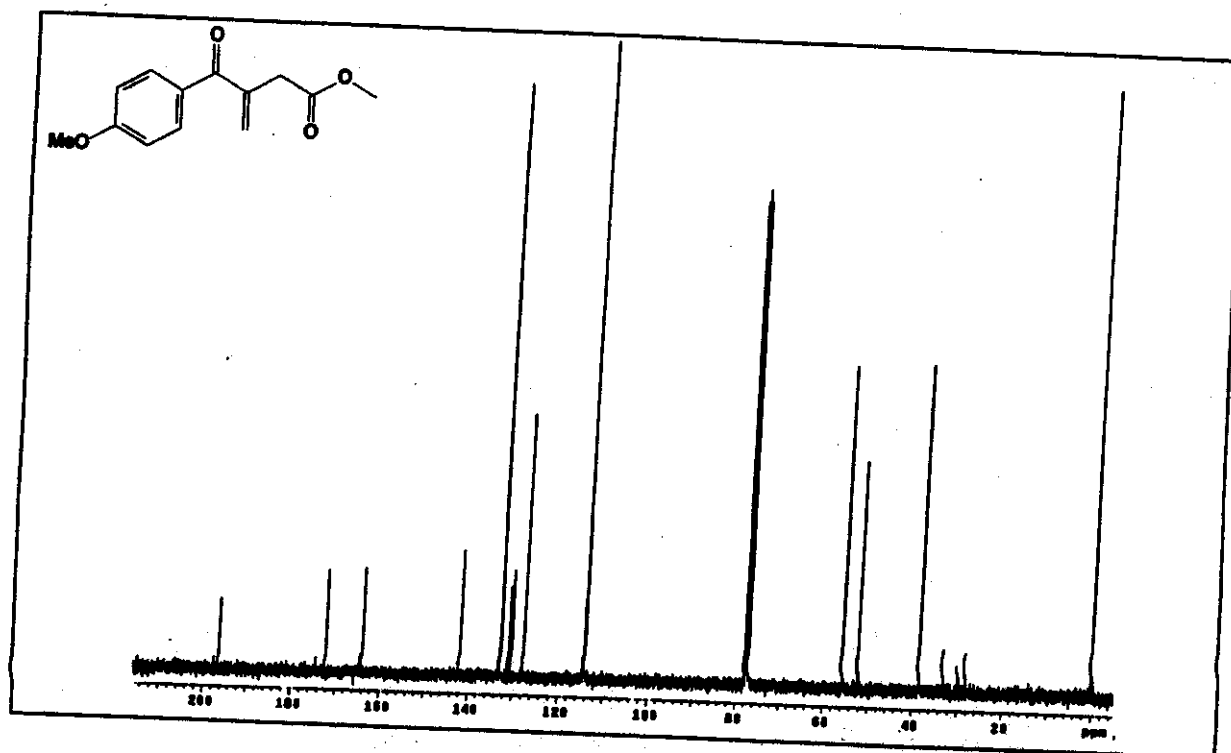
Espectro 17 : IV do 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenato de metila, 84a



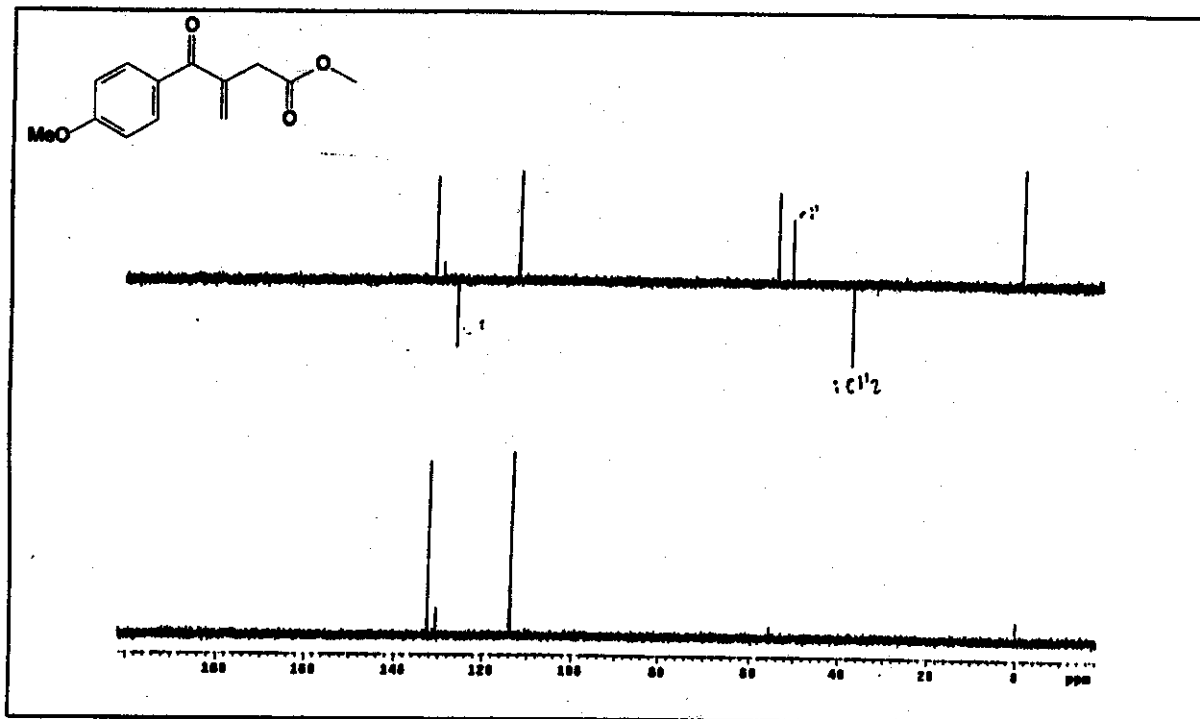
Espectro 18 : EM do 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenato de metila, 84a



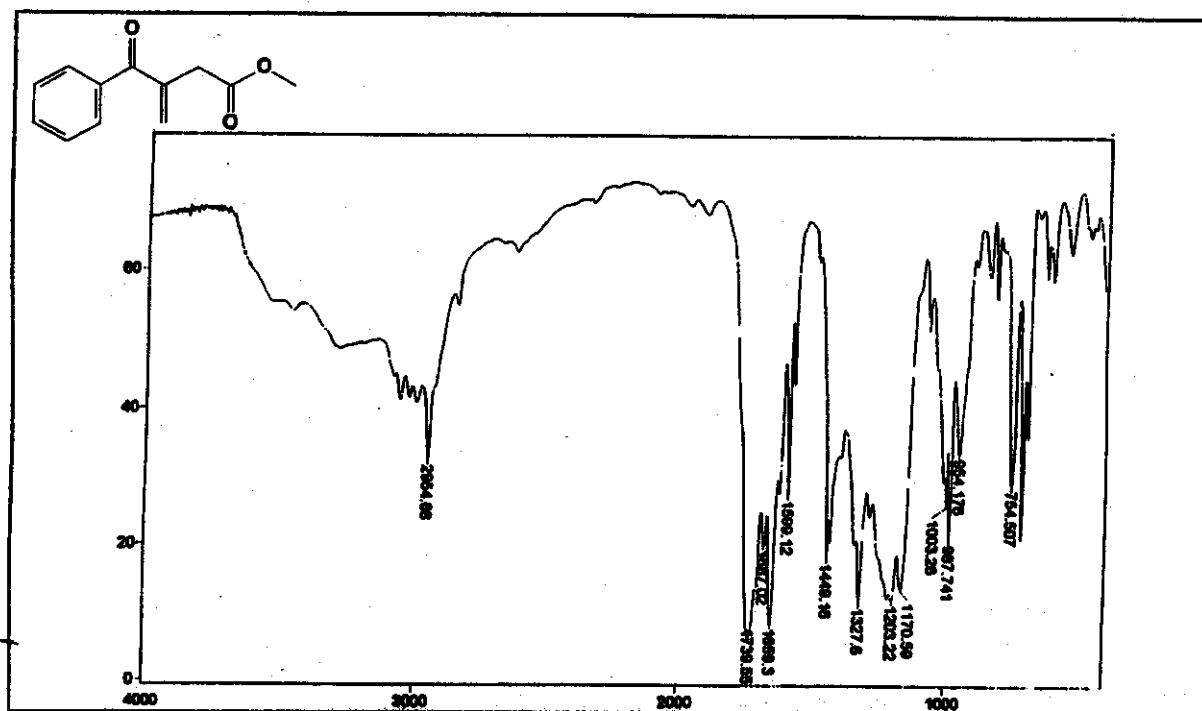
Espectro 19 : RMN ^1H do 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenato de metila, 84a



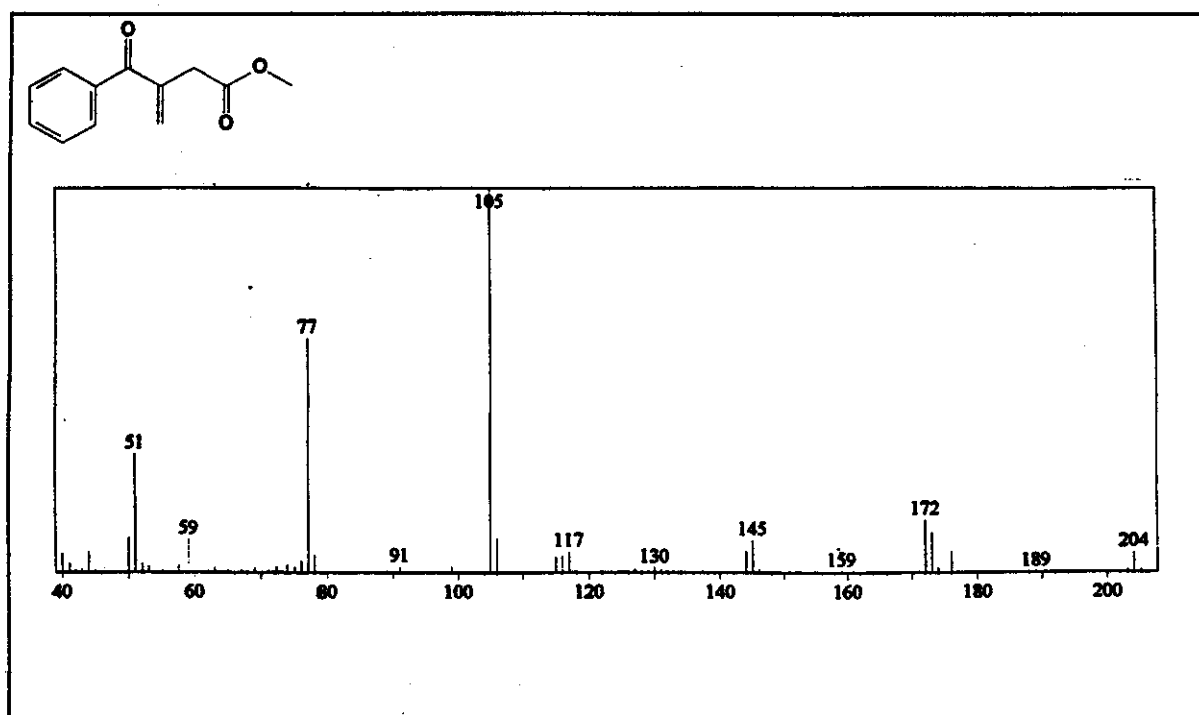
Espectro 20 : RMN ^{13}C do 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenato de metila, 84a



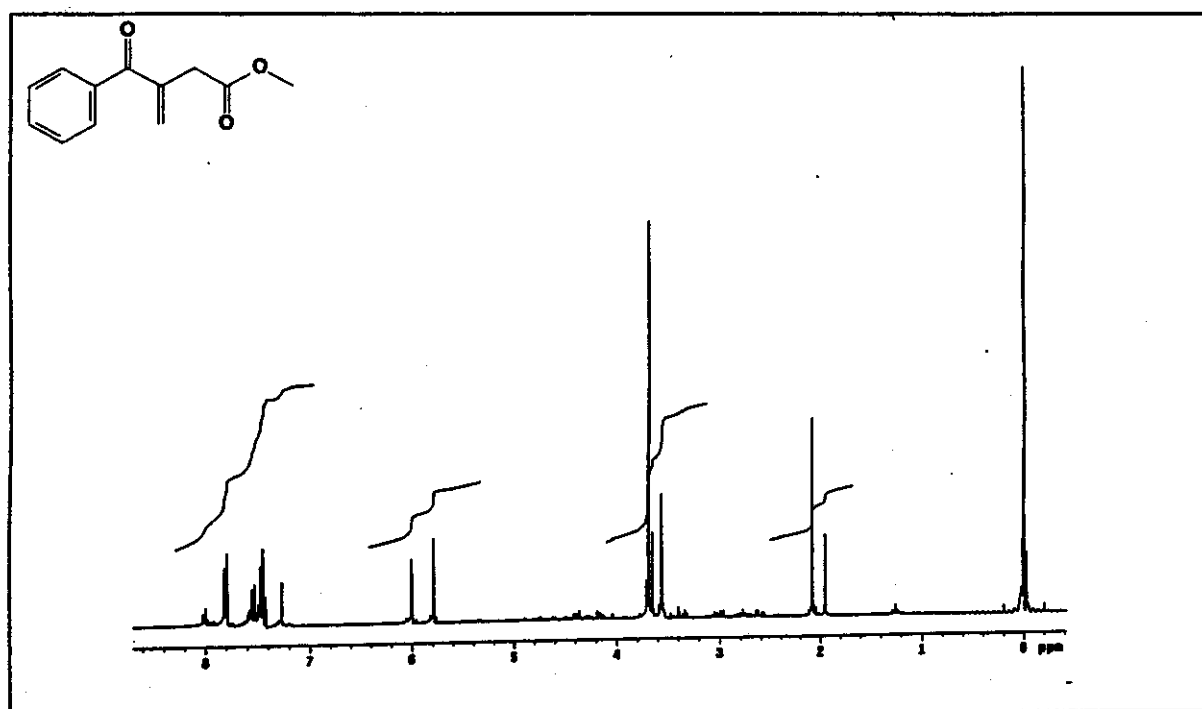
Espectro 21 : RMN ^{13}C (DEPT) do 3-(4-metoxibenzoil)-3-butenato de metila, 84a



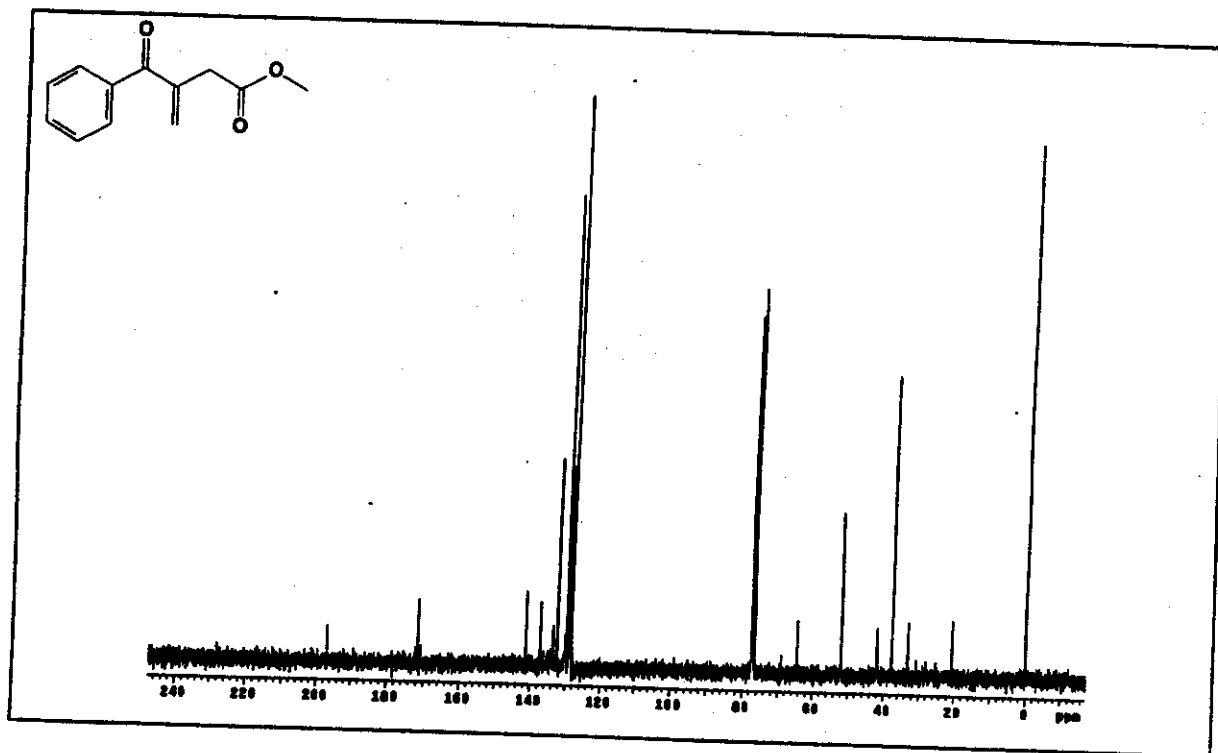
Espectro 22 : IV do 3-benzoil-3-butenato de metila, 84b



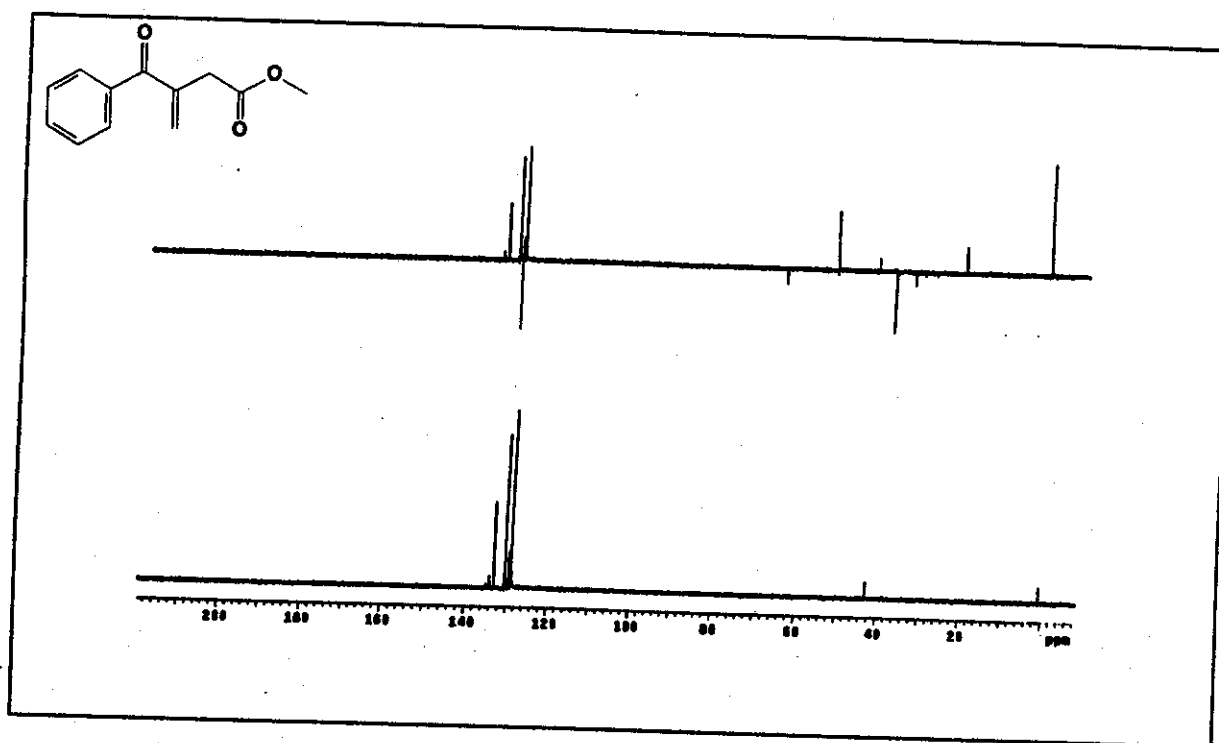
Espectro 23 : EM do 3-benzoil-3-butenato de metila, 84b



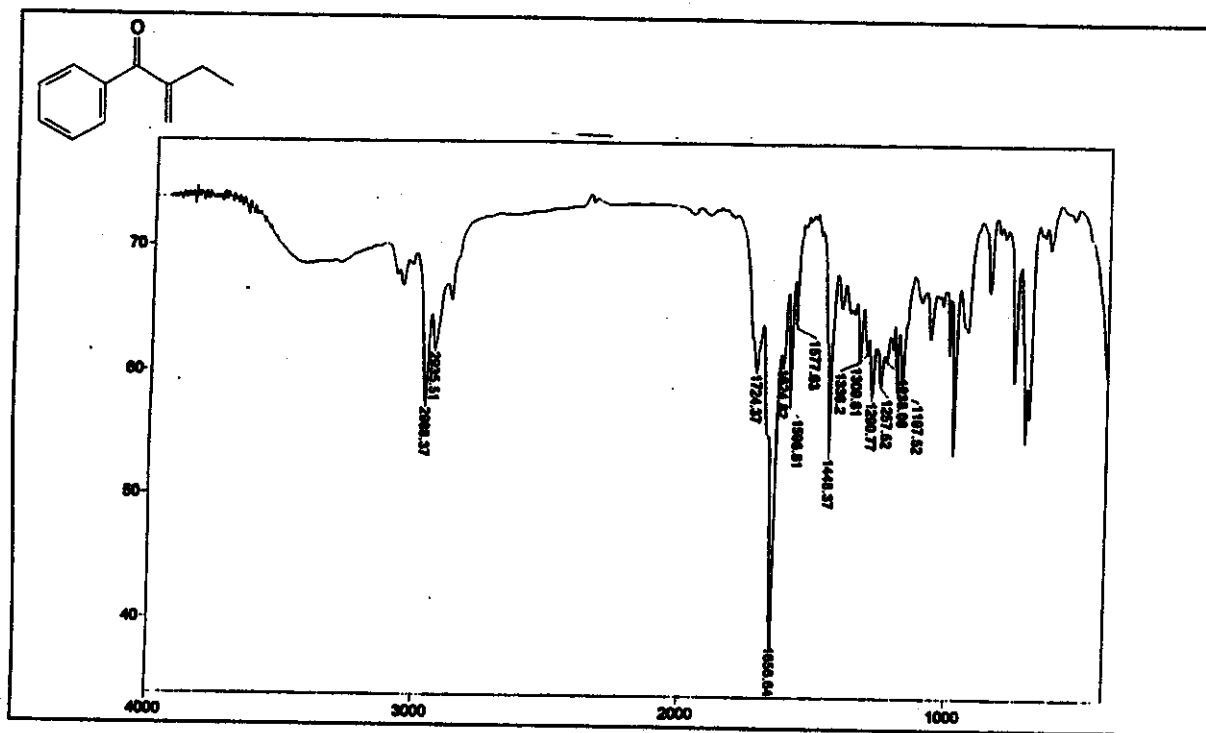
Espectro 24 : RMN¹H do 3-benzoil-3-butenato de metila, 84b



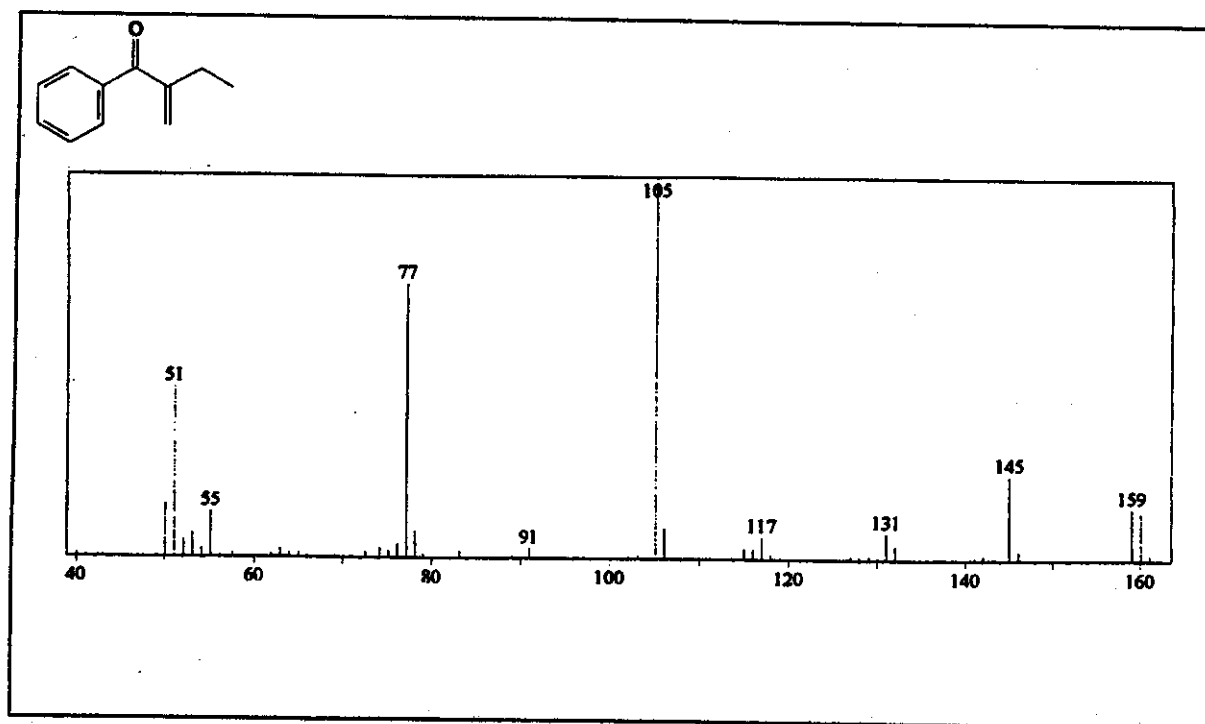
Espectro 25 : RMN ^{13}C do 3-benzoil-3-butenato de metila, 84b



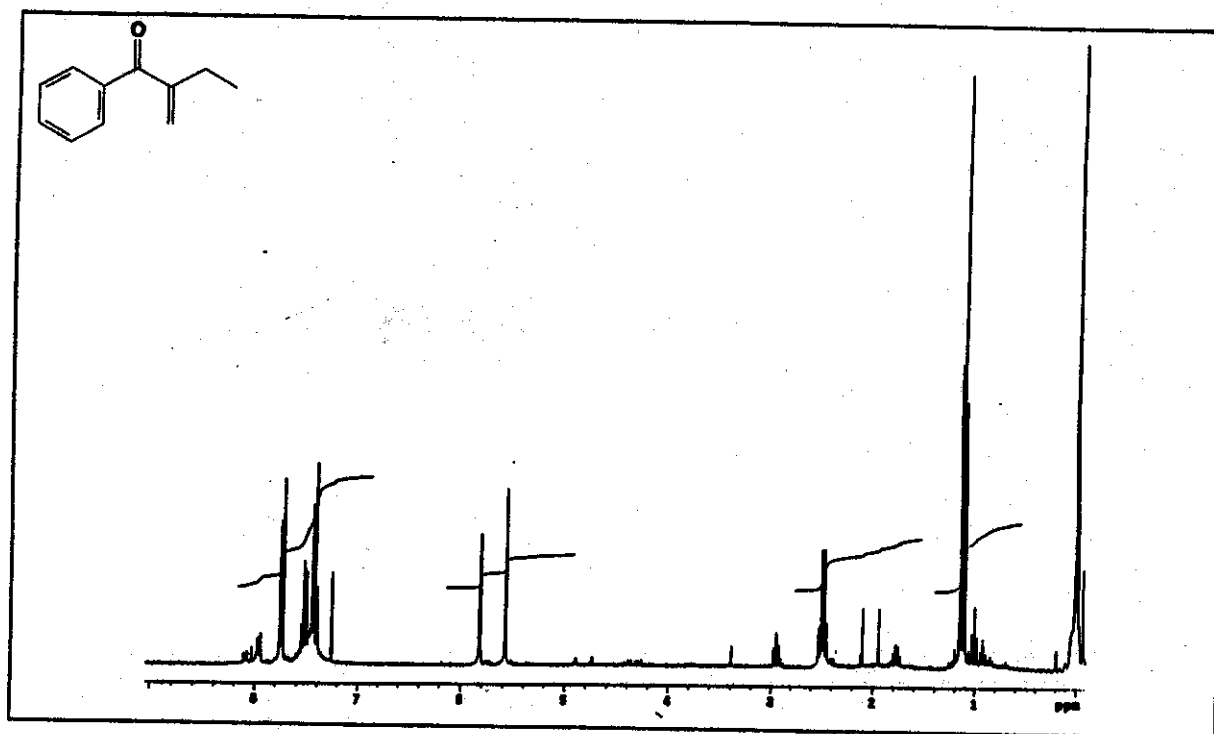
Espectro 26 : RMN ^{13}C (DEPT) do 3-benzoil-3-butenato de metila, 84b



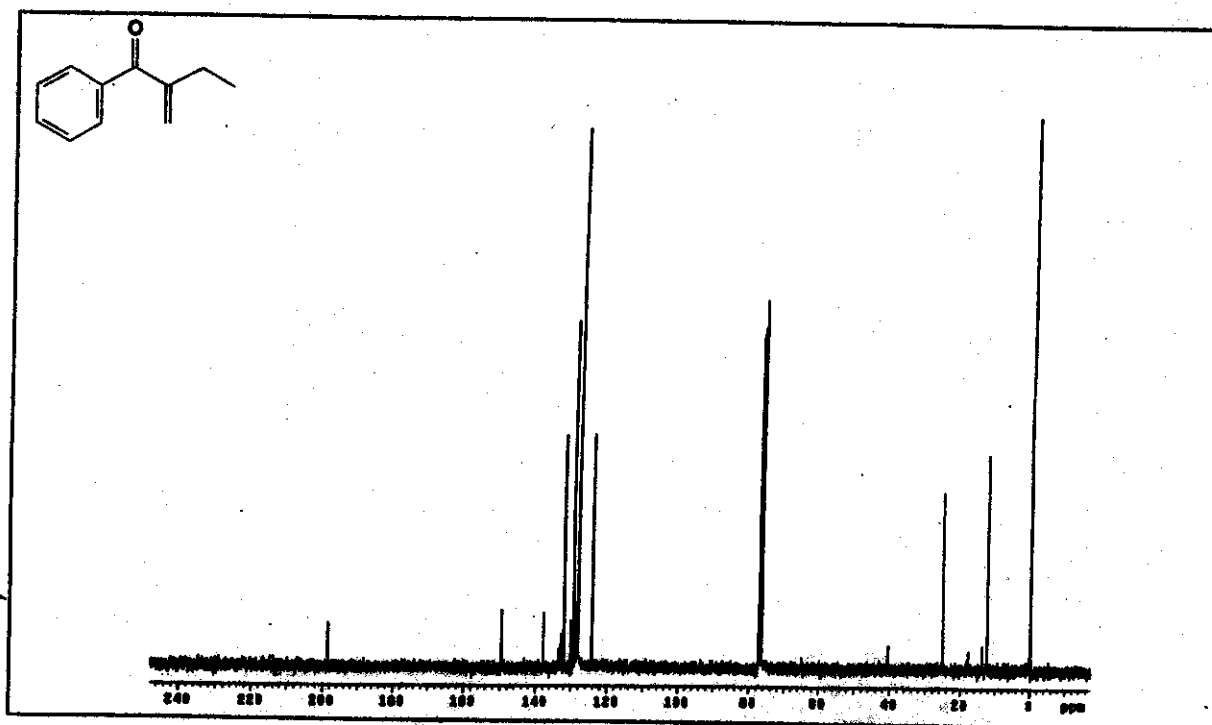
Espectro 27 : IV do 2-benzil-1-buteno, 84c



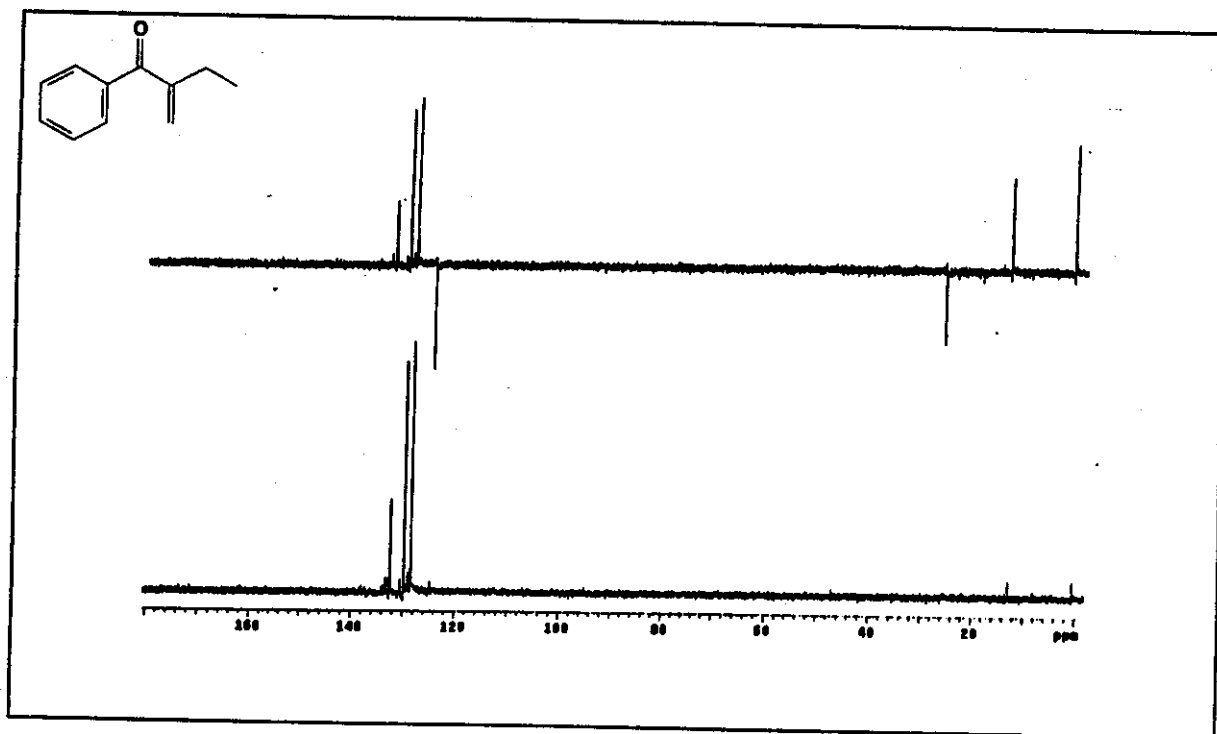
Espectro 28 : EM do 2-benzil-1-buteno, 84c



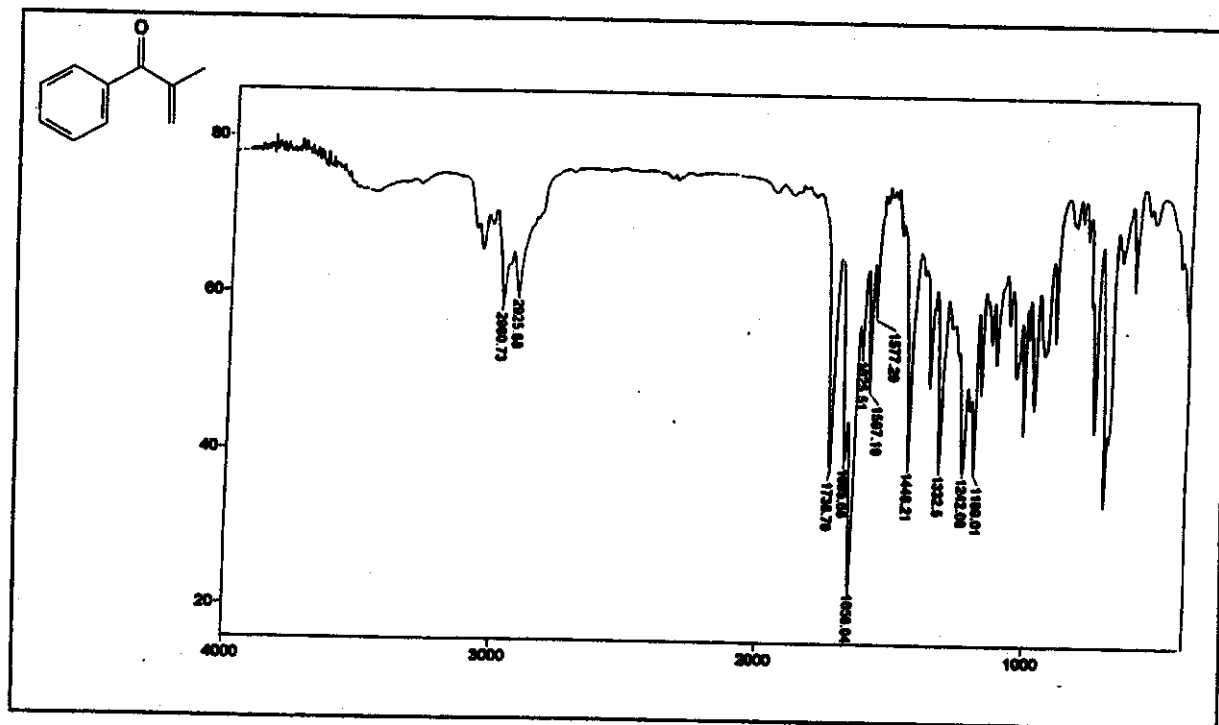
Espectro 29 : RMN ^1H do 2-benzoil-1-buteno, 84c



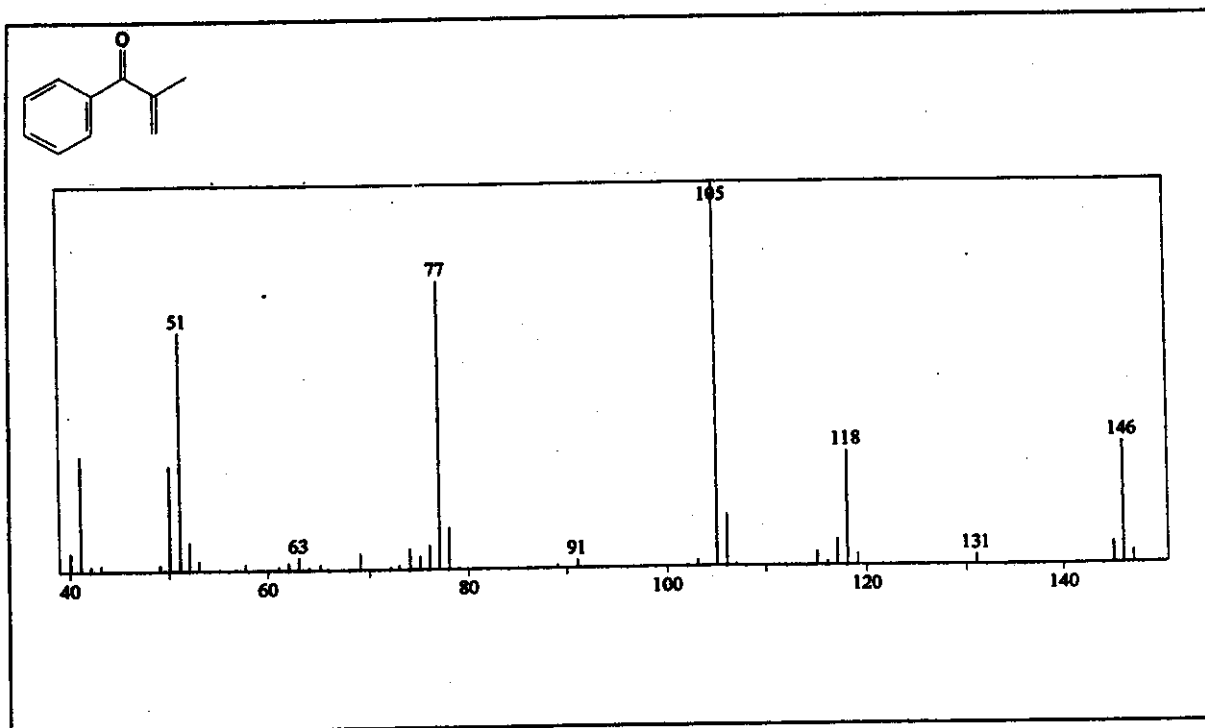
Espectro 30 : RMN ^{13}C do 2-benzoil-1-buteno, 84c



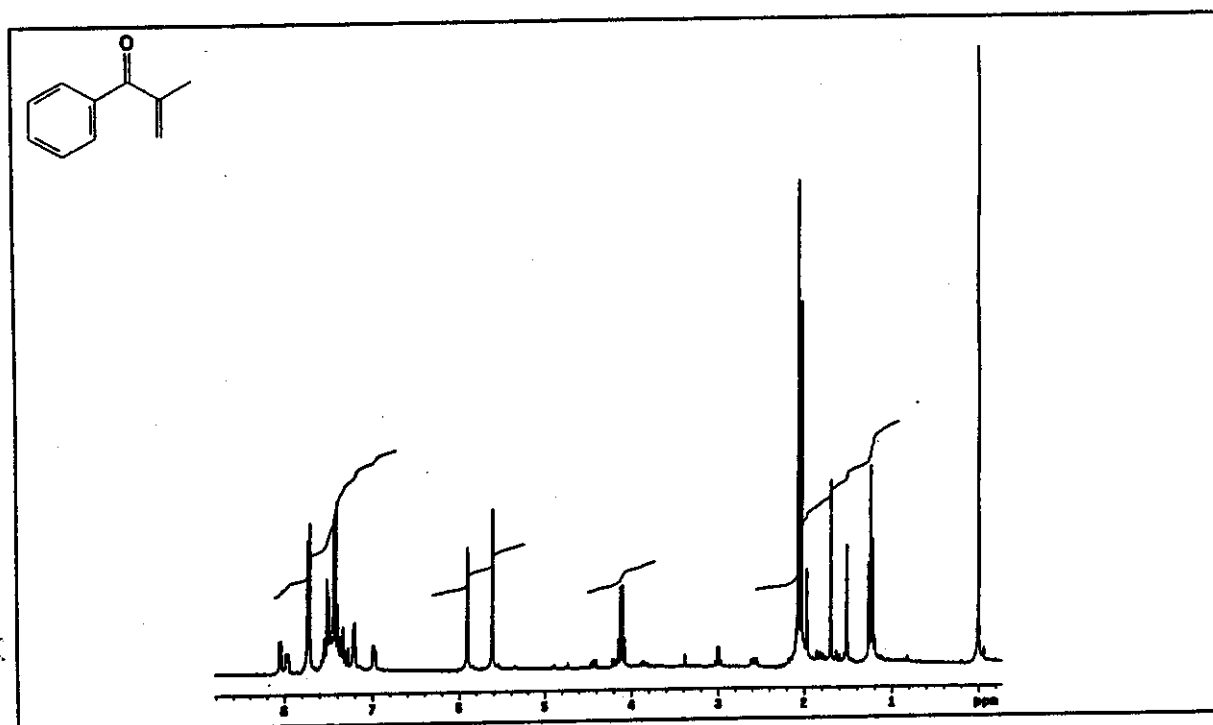
Espectro 31 : RMN ^{13}C (DEPT) do 2-benzoil-1-buteno, 84c

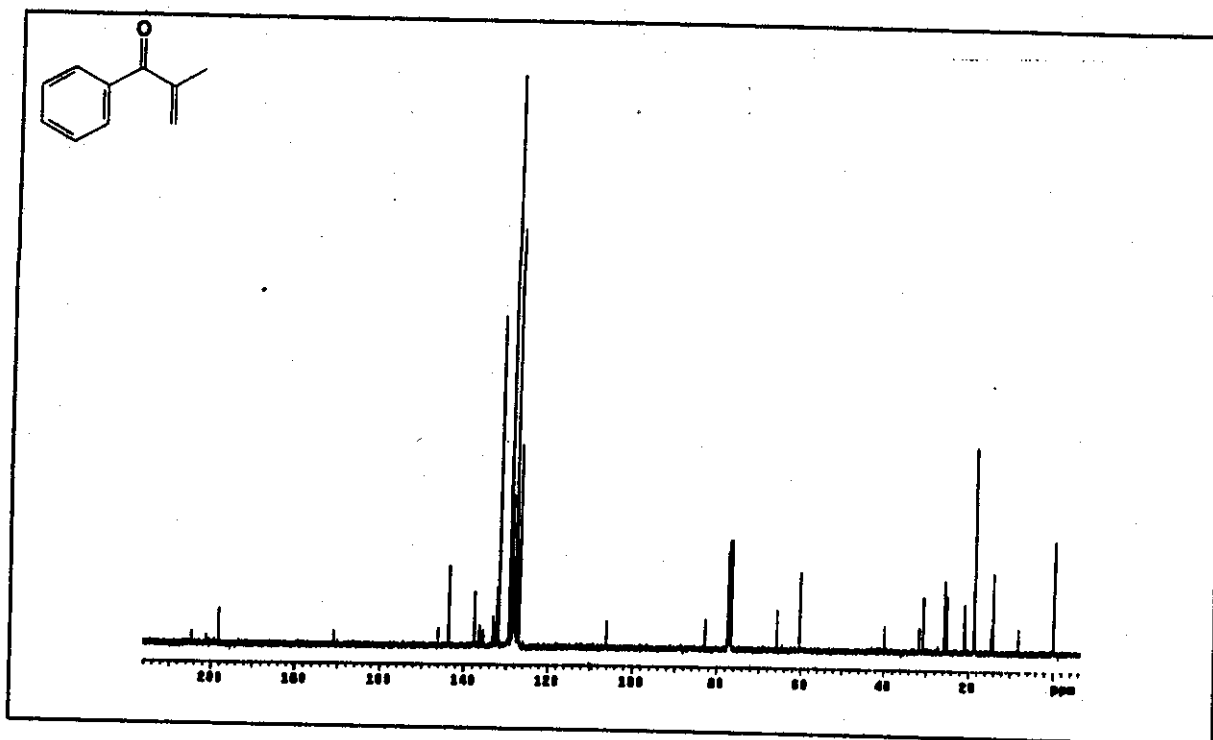
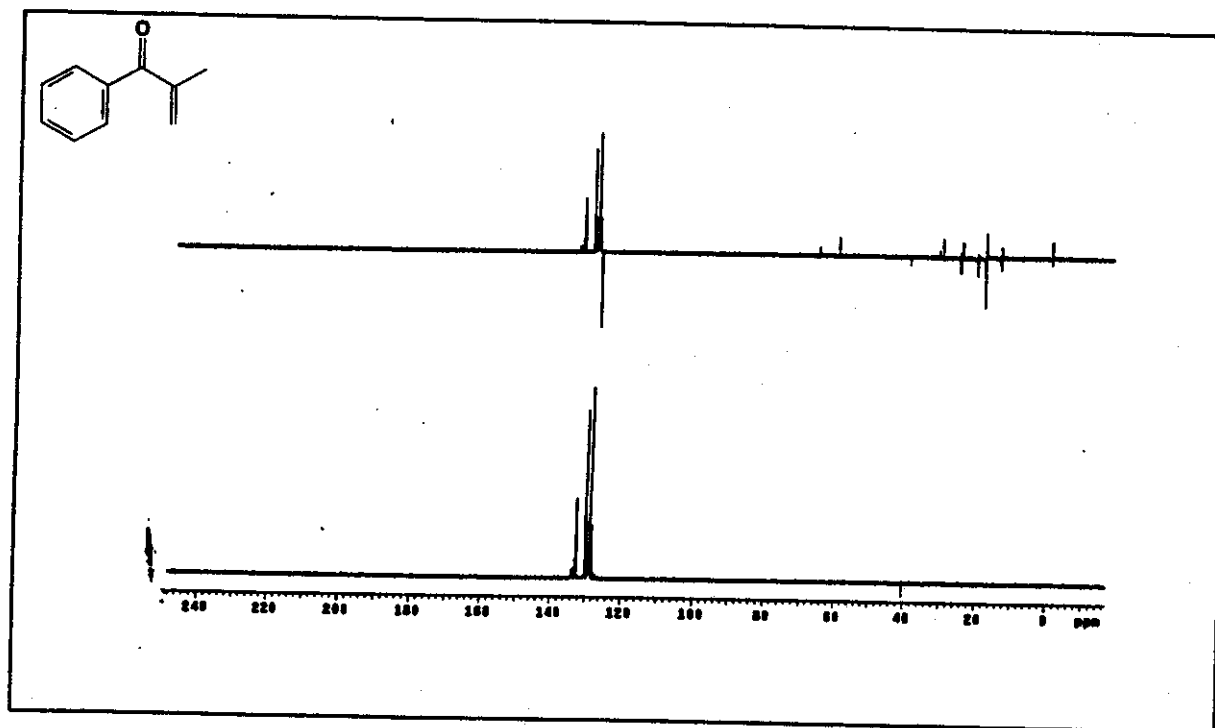


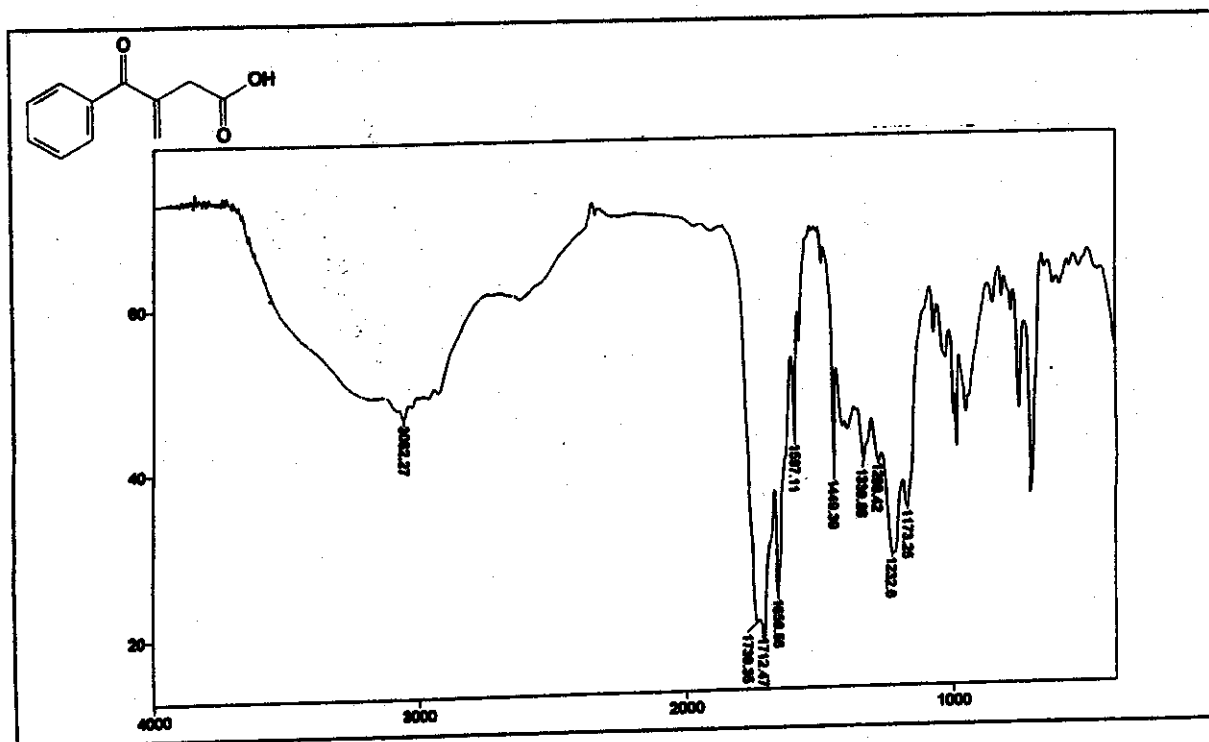
Espectro 32 : IV do 2-benzoil-propeno, 84d



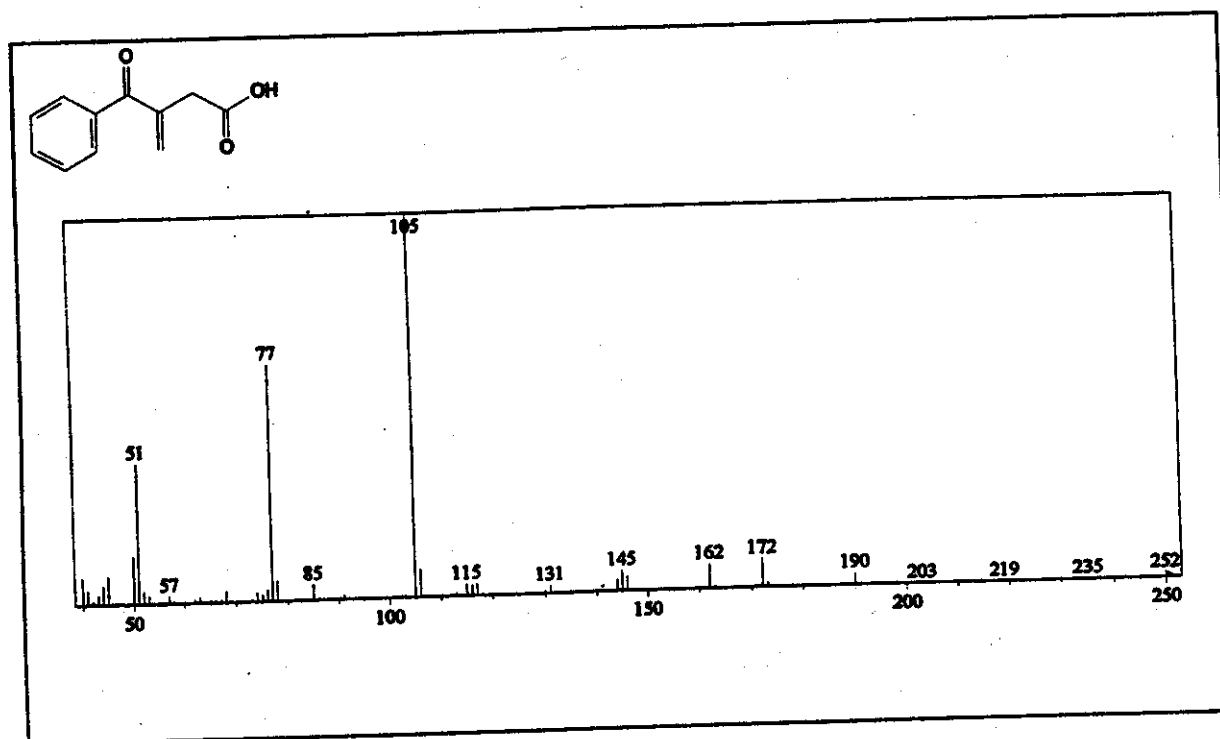
Espectro 33 : EM do 2-benzoil-propeno, 84d

Espectro 34 : RMN¹H do 2-benzoil-propeno, 84d

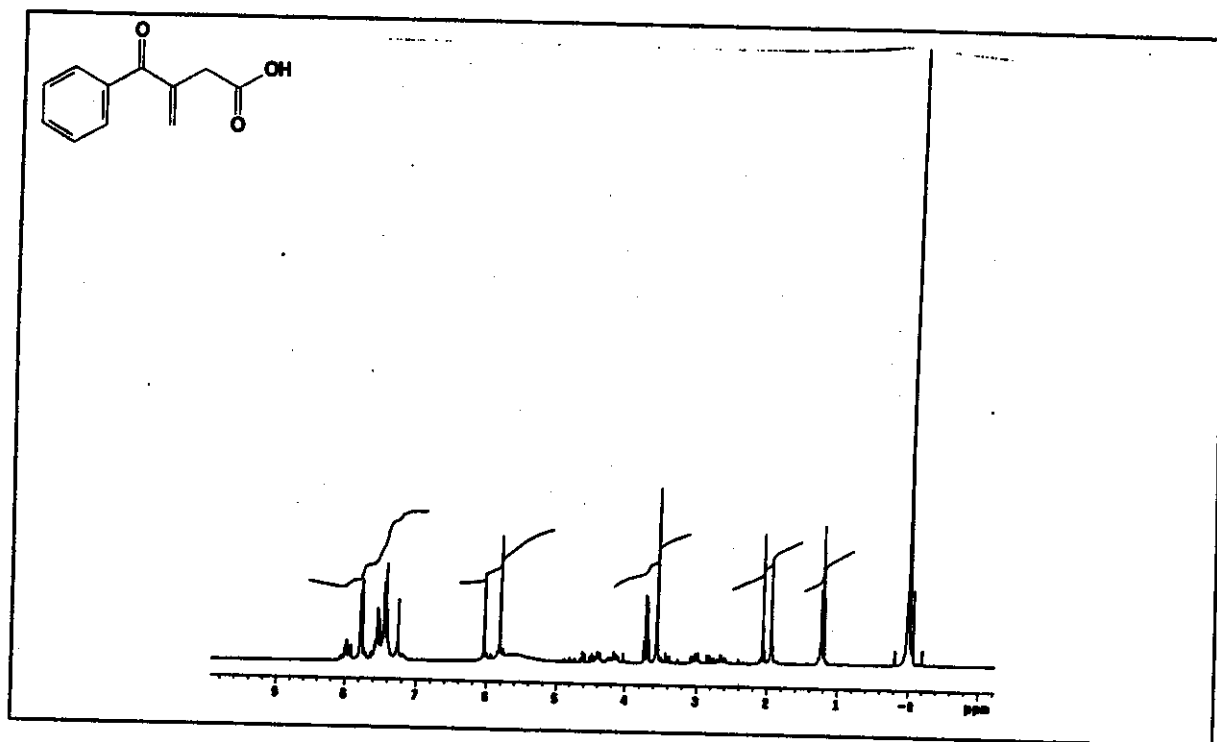
Espectro 35 : RMN^{13}C do 2-benzoil-propeno, 84dEspectro 36 : RMN^{13}C (DEPT) do 2-benzoil-propeno, 84d



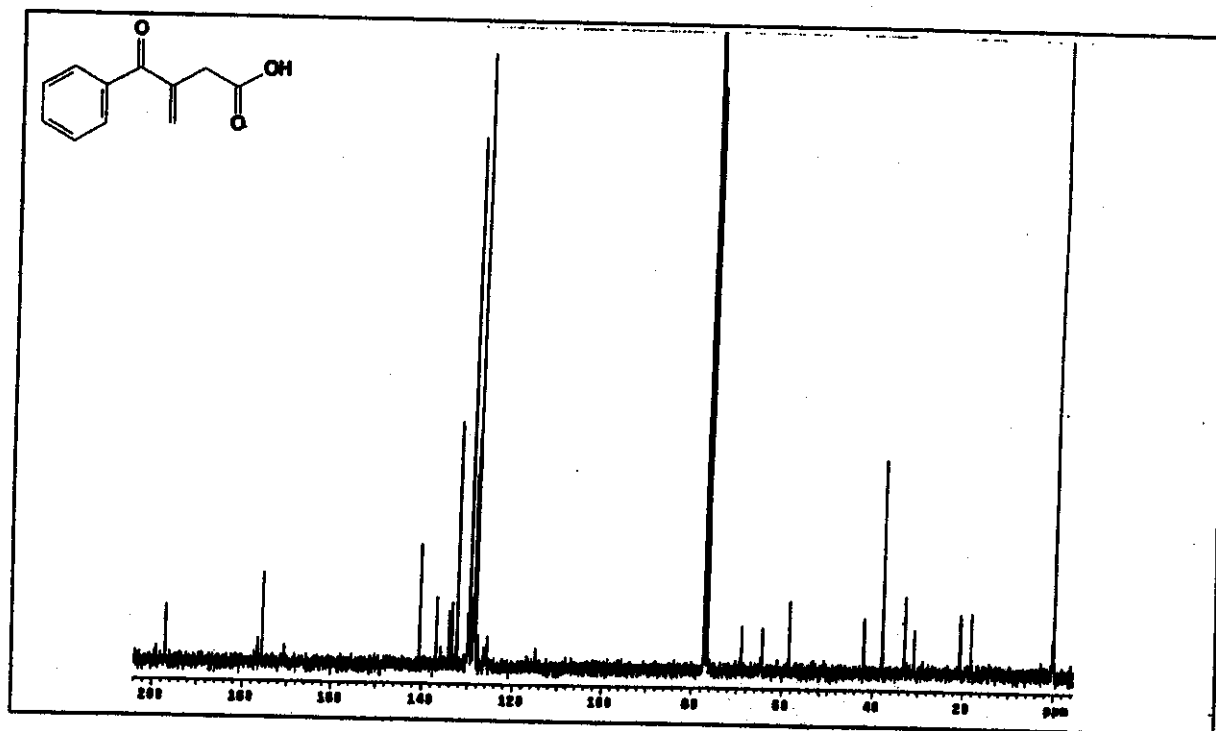
Espectro 37 : IV do ácido 3-benzoil-3-butenóico, 84e



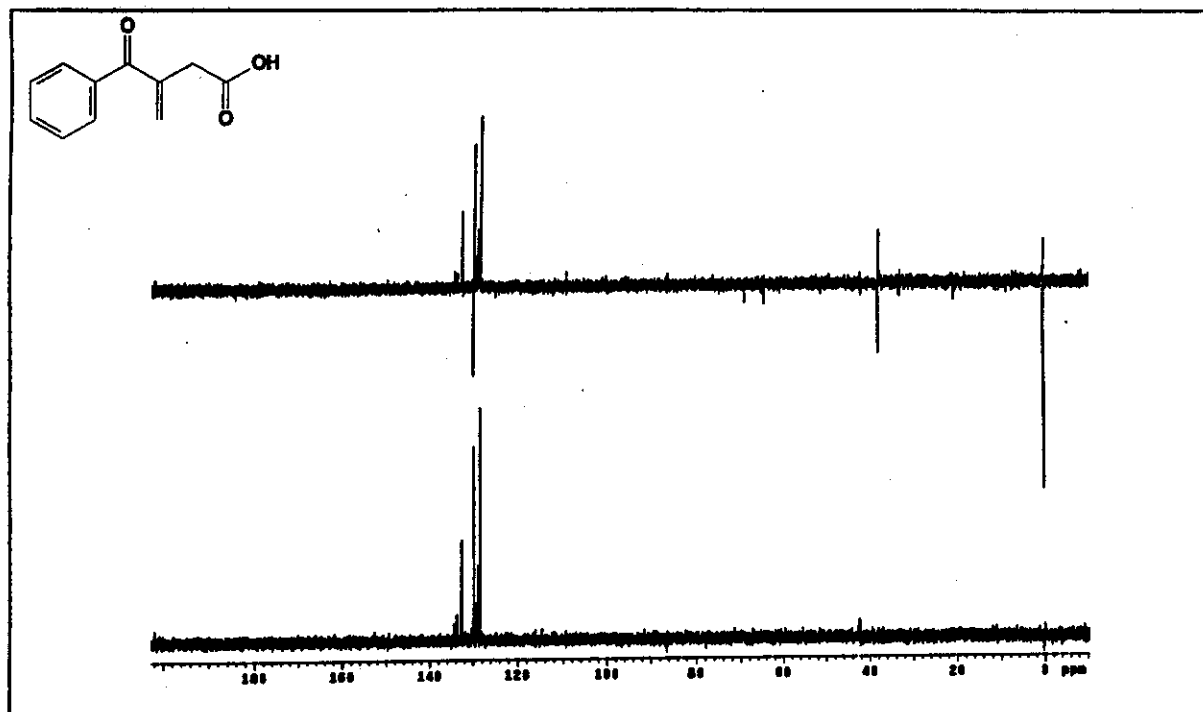
Espectro 38 : EM do ácido 3-benzoil-3-butenóico, 84e



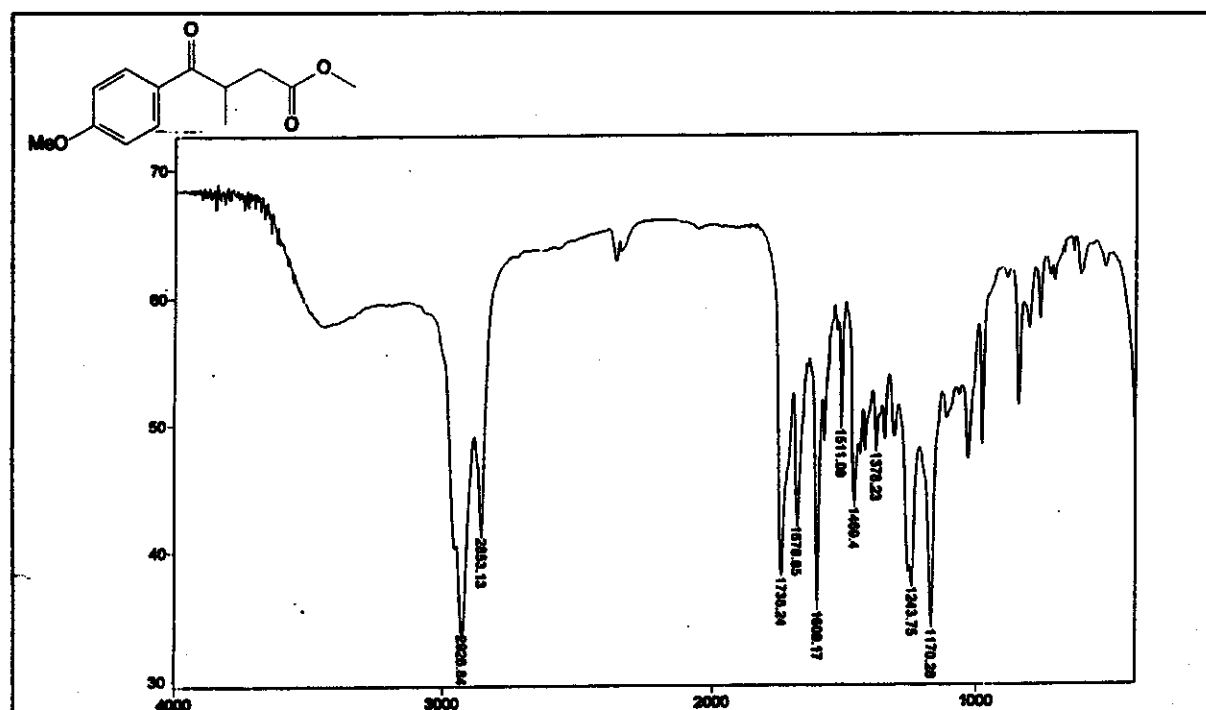
Espectro 39 : RMN ^1H do ácido 3-benzoil-3-butenóico, 84e



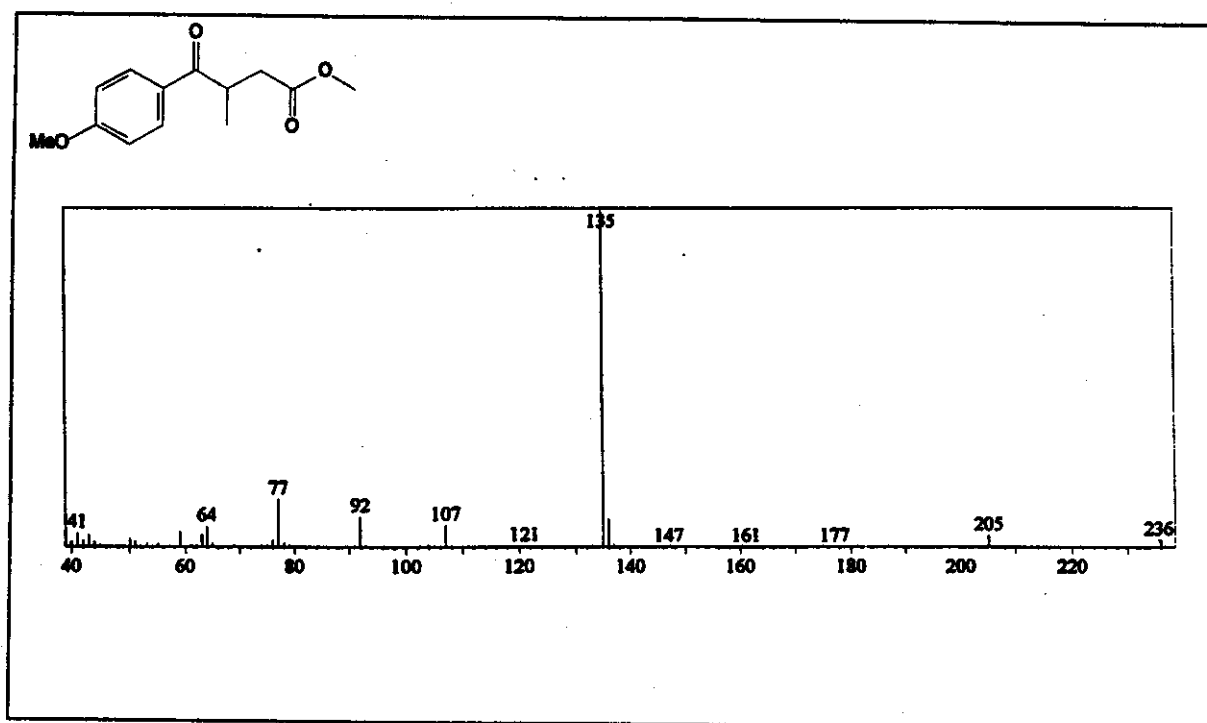
Espectro 40 : RMN ^{13}C do ácido 3-benzoil-3-butenóico, 84e



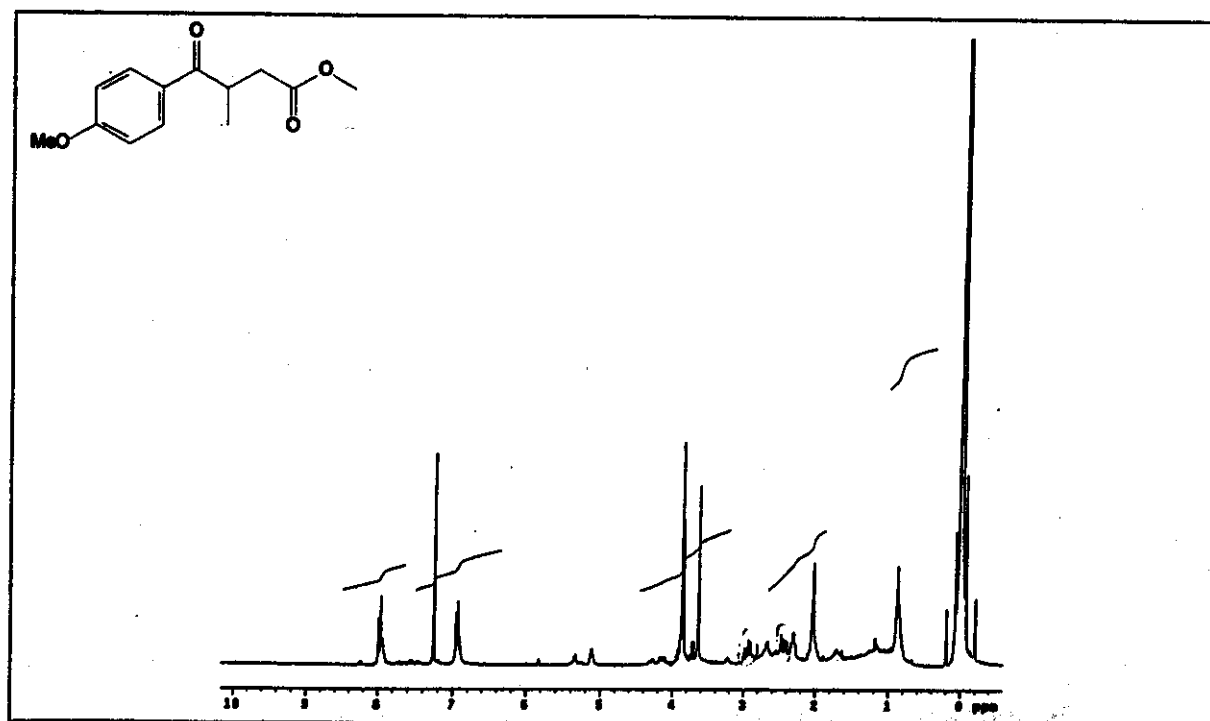
Espectro 41 : RMN¹³C (DEPT) do ácido 3-benzoil-3-butenóico, 84e



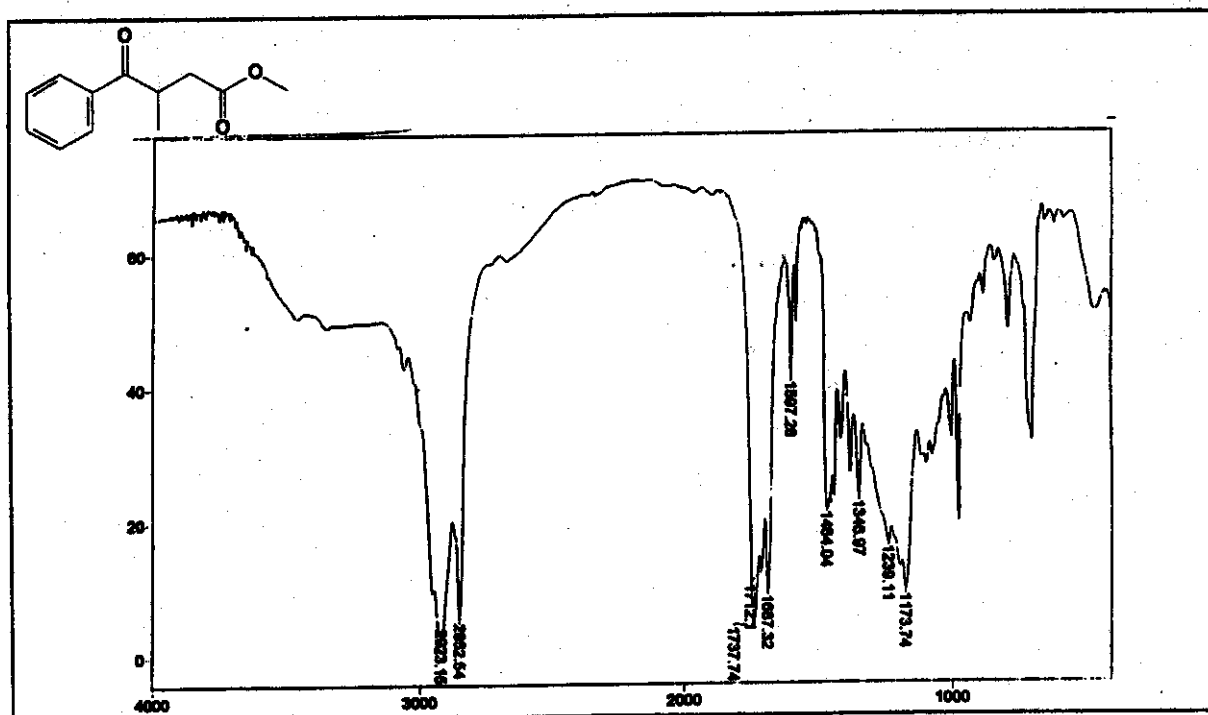
Espectro 42 : IV do 4-(4-metoxifenil)-3-metil-4-oxo-butanoato de metila, 85a



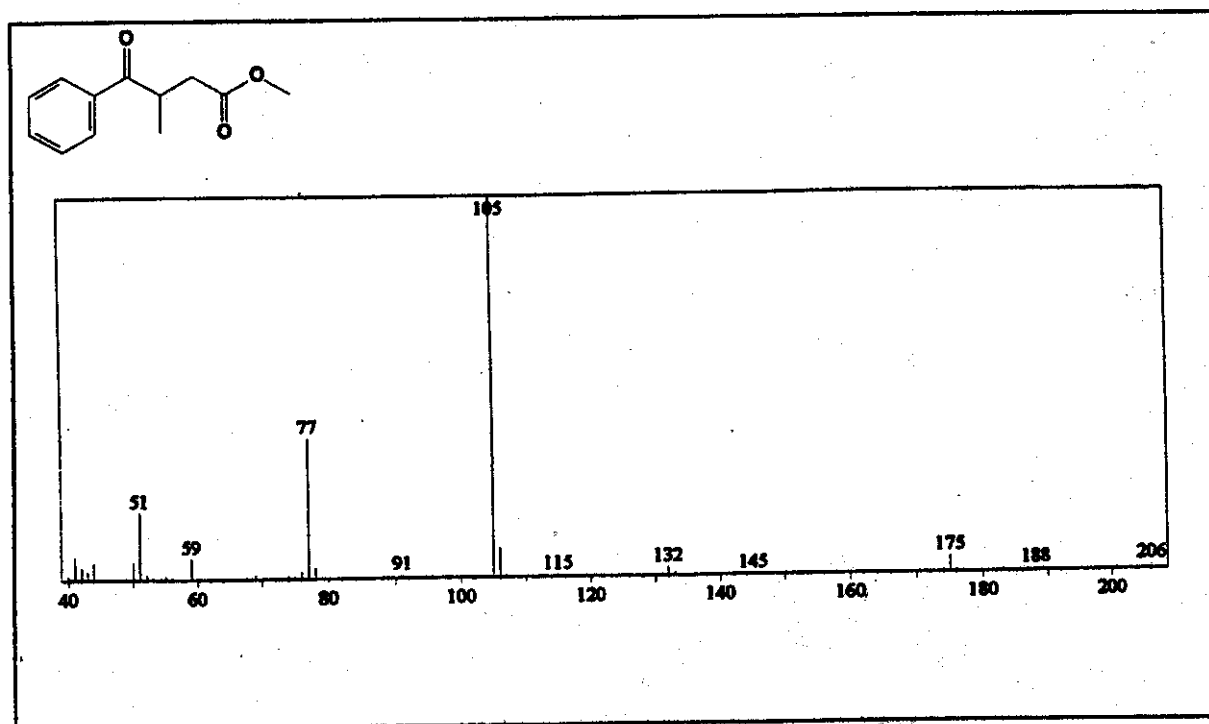
Espectro 43 : EM do 4-(4-metoxifenil)-3-metil-4-oxo-butanoato de metila, 85a



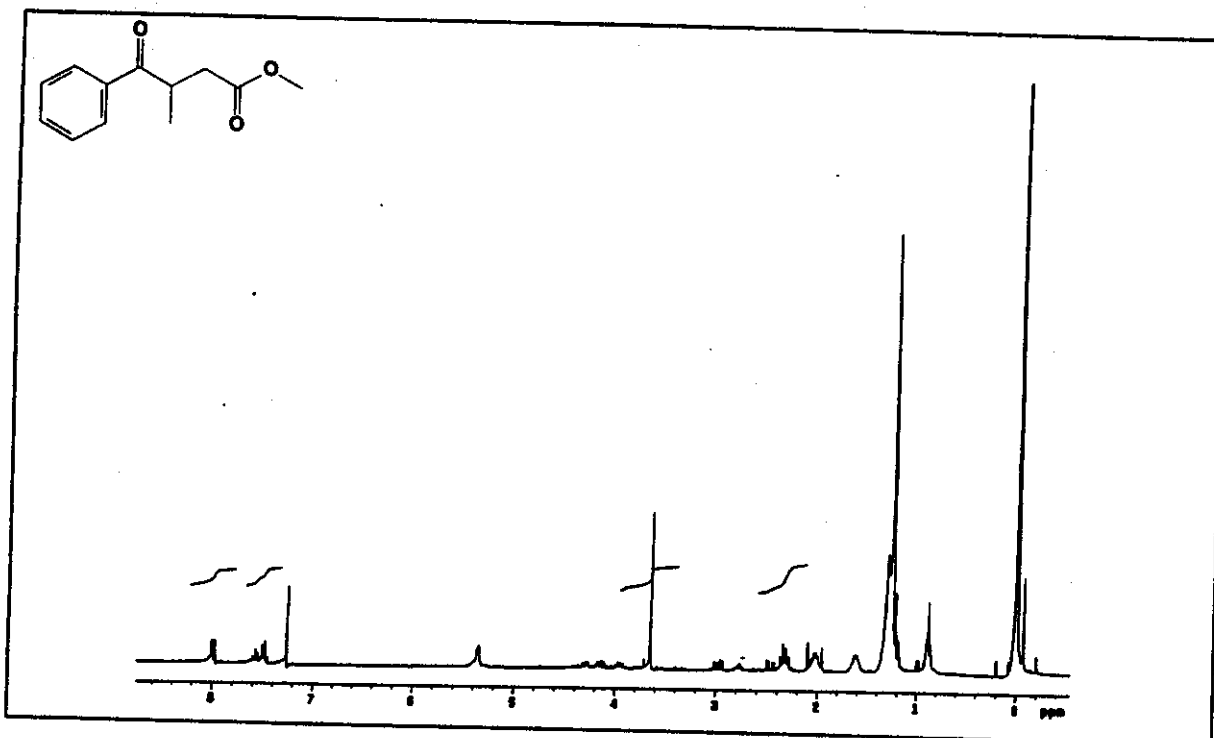
Espectro 44 : RMN ^1H do 4-(4-metoxifenil)-3-metil-4-oxo-butanoato de metila, 85a



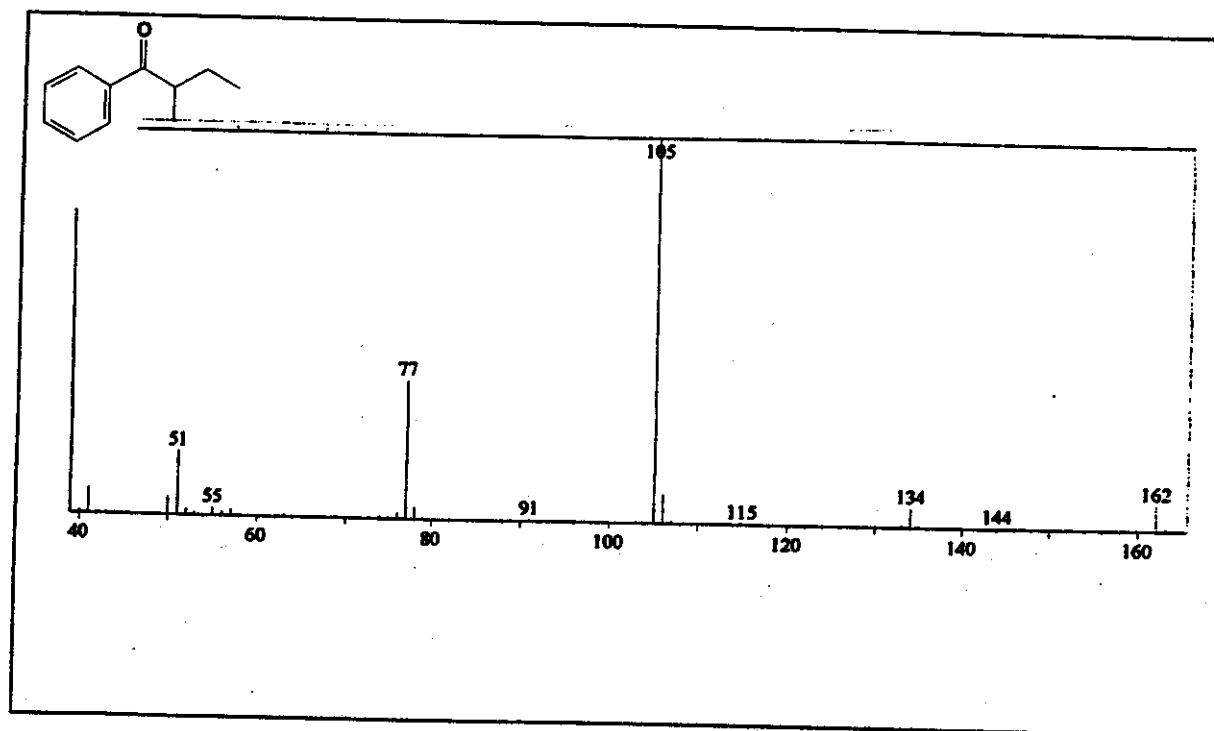
Espectro 45 : IV do 4-fenil-3-metil-4-oxo-butanoato de metila, 85b



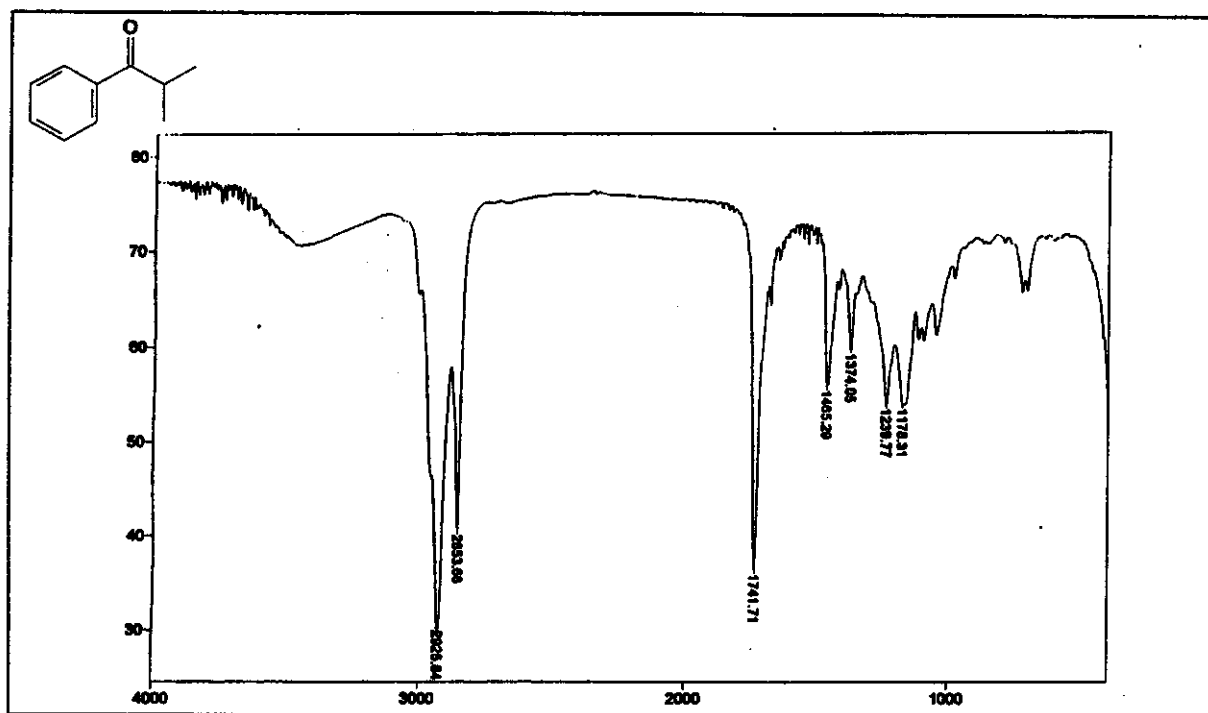
Espectro 46 : EM do 4-fenil-3-metil-4-oxo-butanoato de metila, 85b



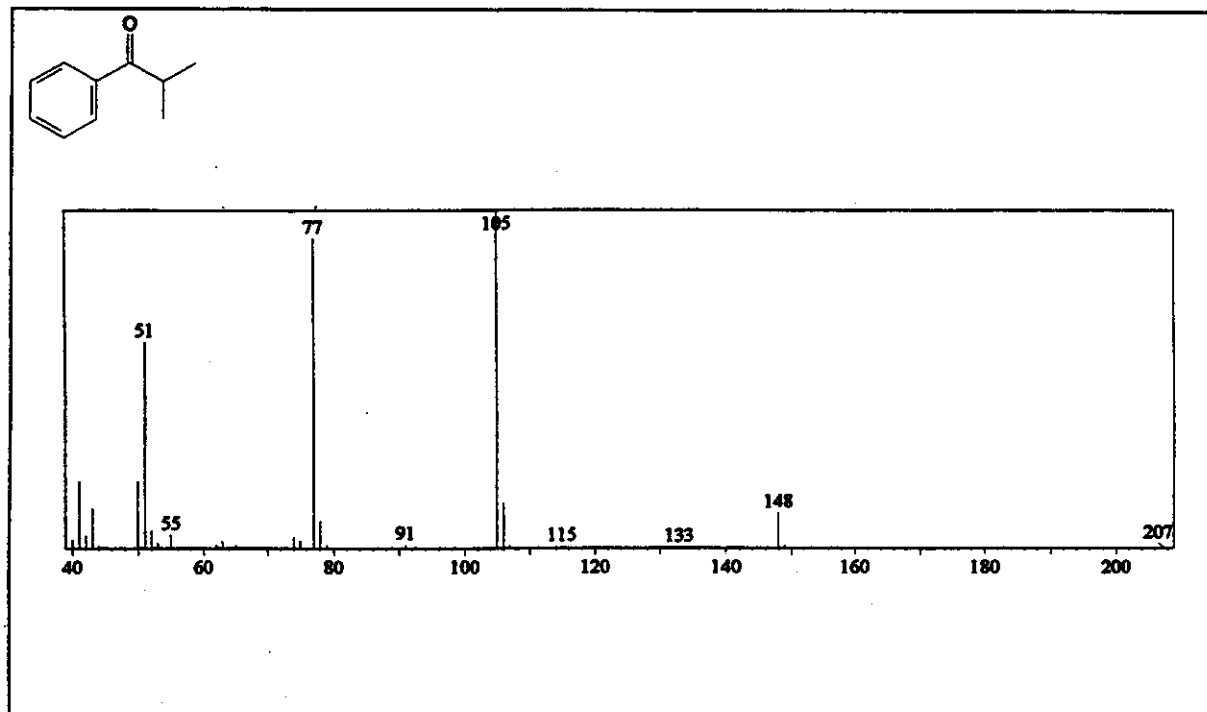
Espectro 47 : RMN¹H do 4-fenil-3-metil-4-oxo-butanoato de metila, 85b



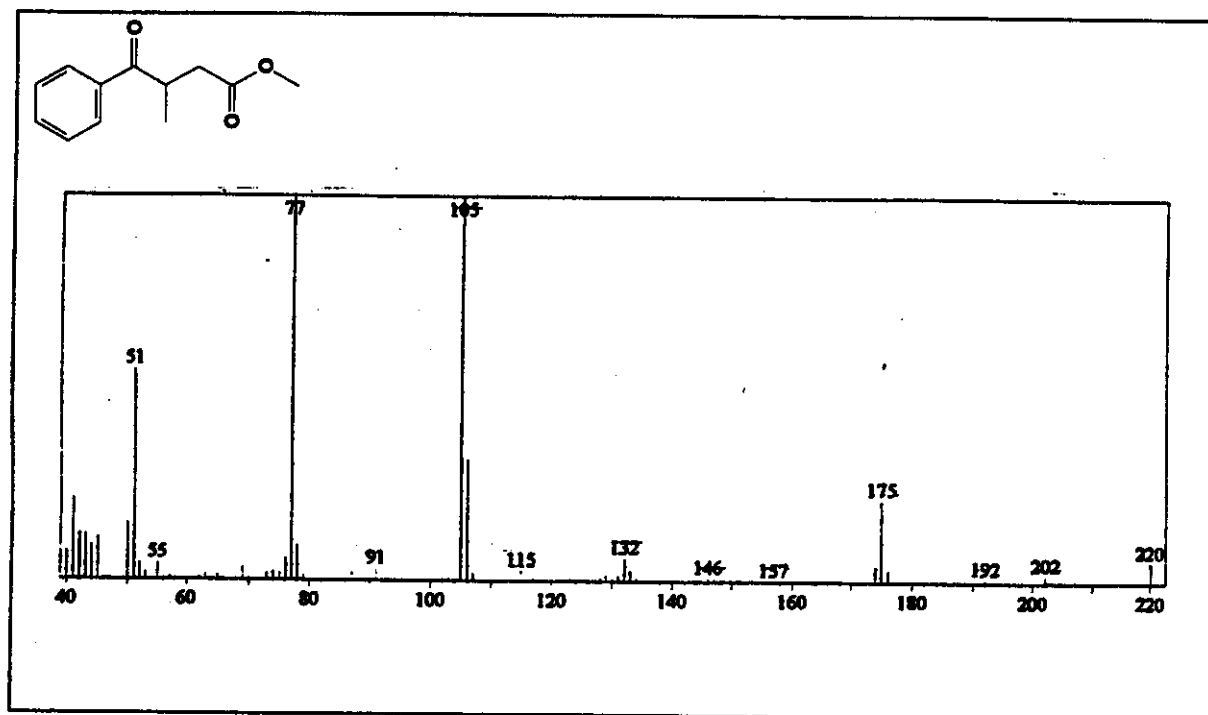
Espectro 48 :EM do 1-fenil-2-metil-butanona, 85c



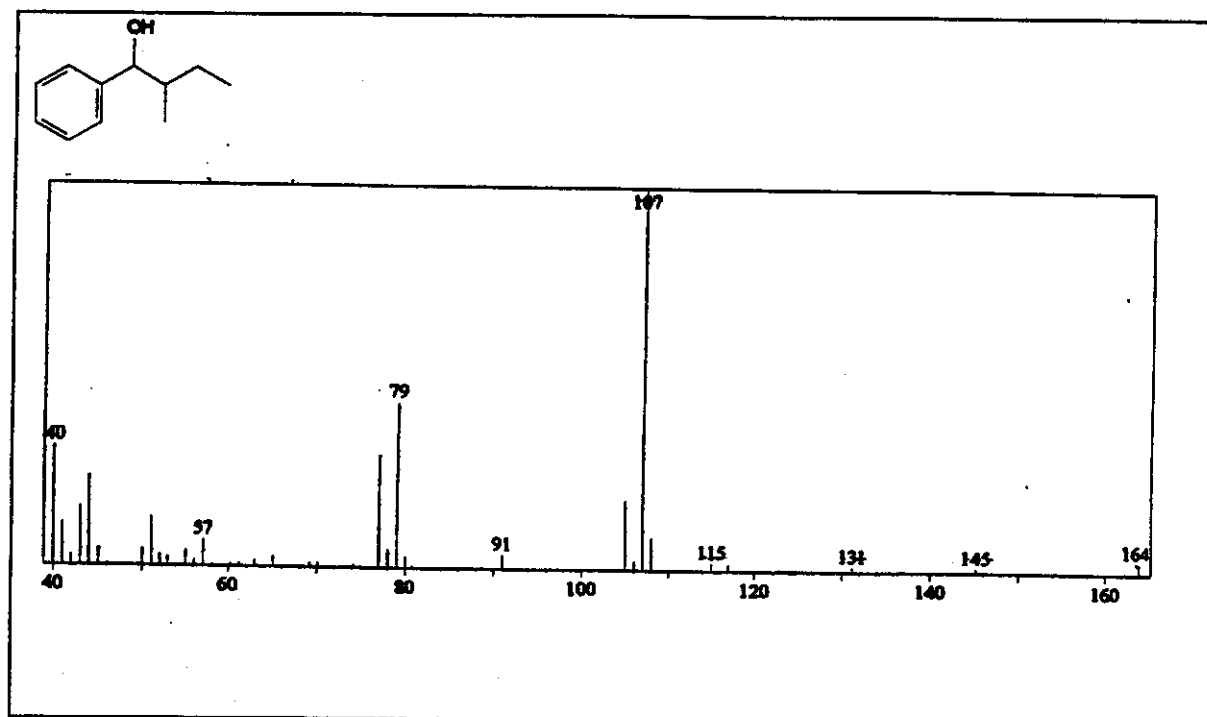
Espectro 49 : IV da 1-fenil-2-metil-propanona, 85d



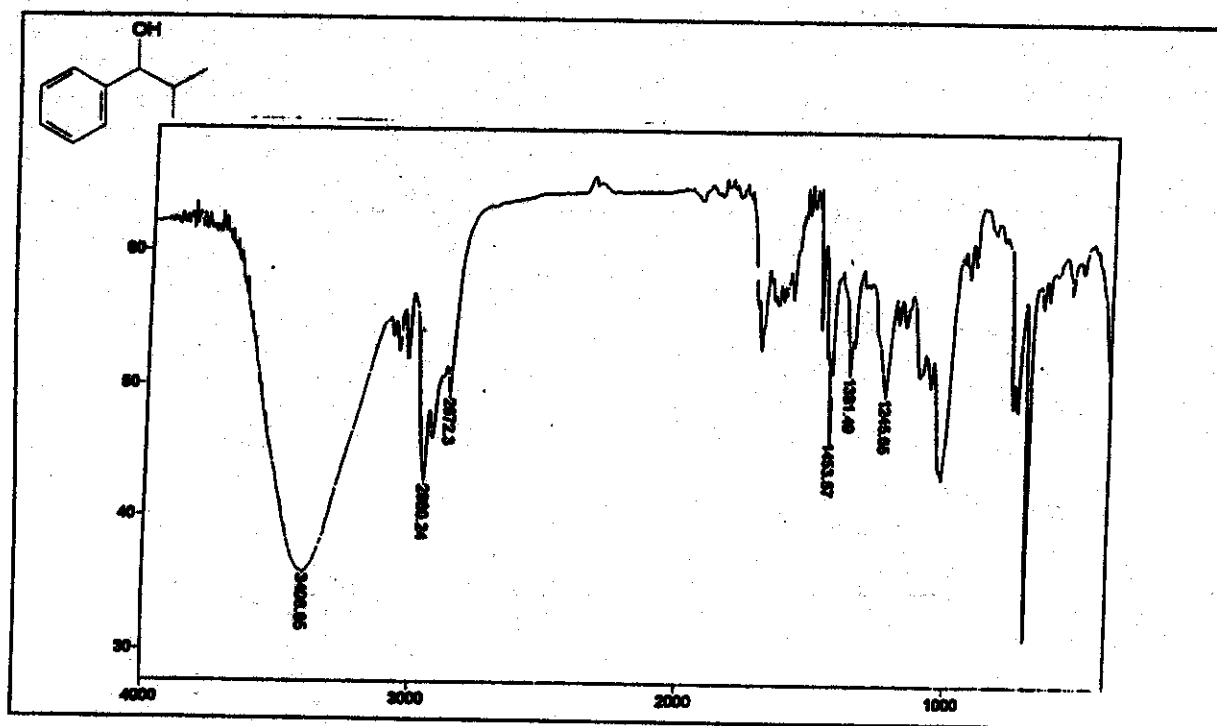
Espectro 50 : EM da 1-fenil-2-metil-propanona, 85d



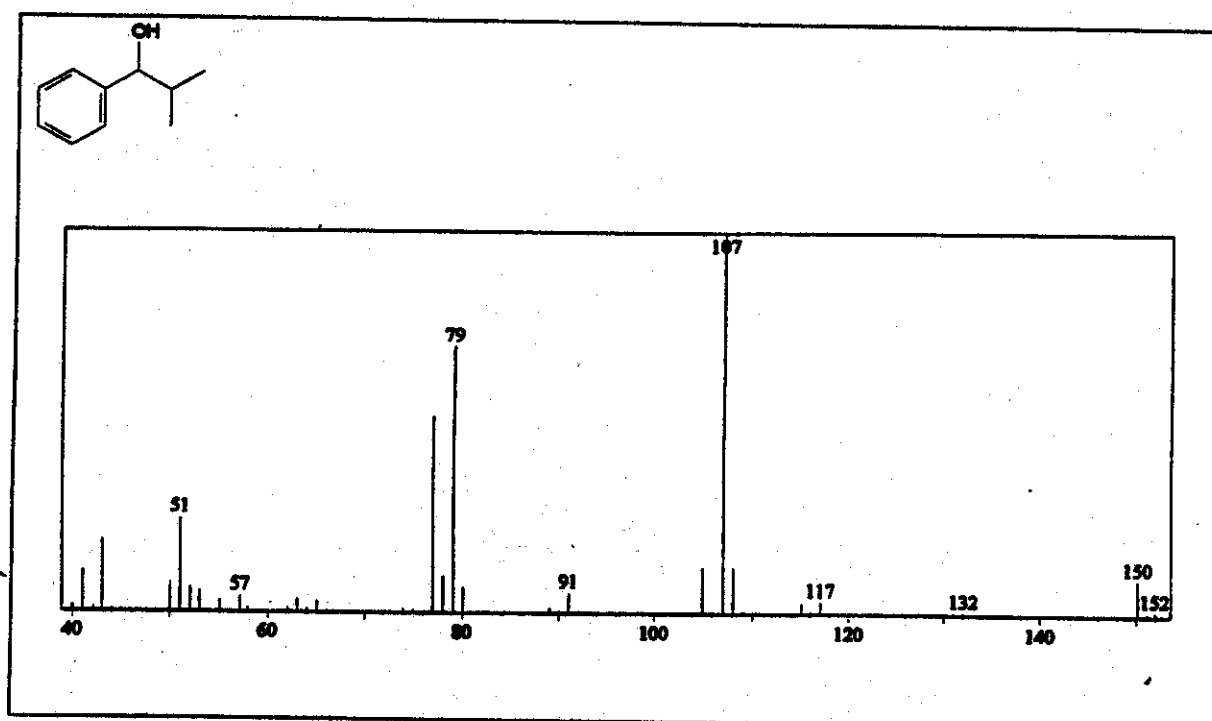
Espectro 51 : EM do ácido 4-fenil-3-metil-4-oxo-butanóico, 85e



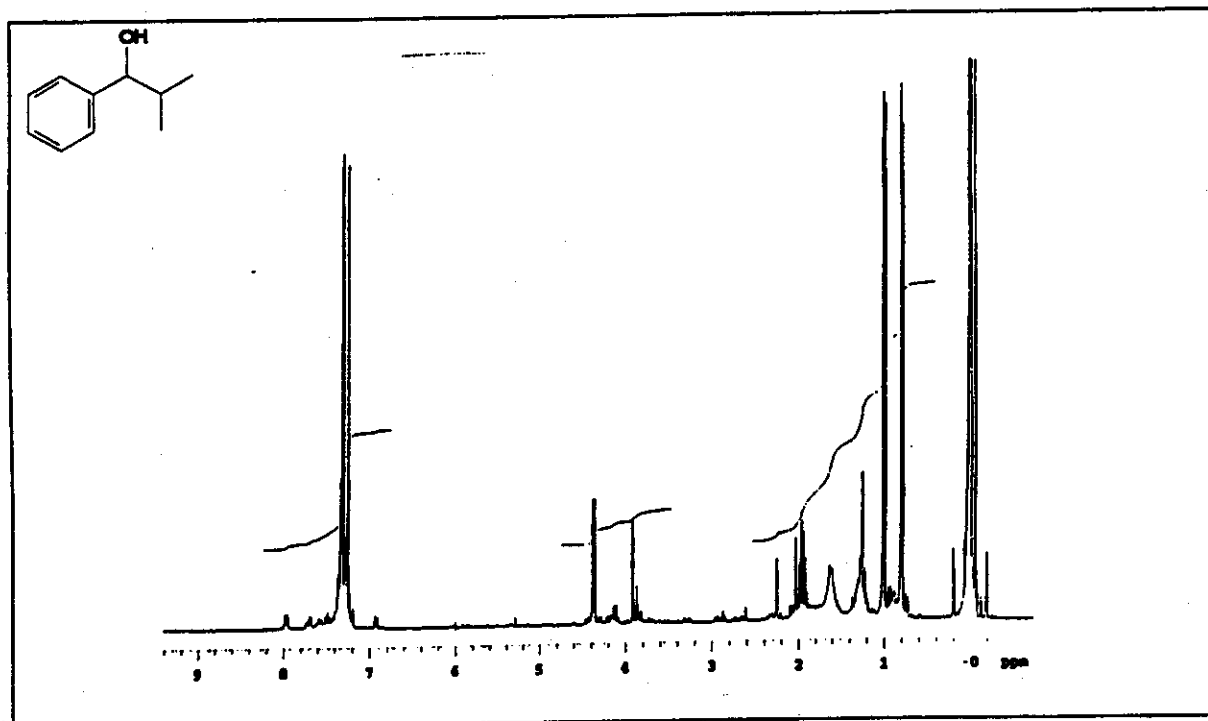
Espectro 52 : EM do 1-fenil-2-metil-1-butanol, 86c



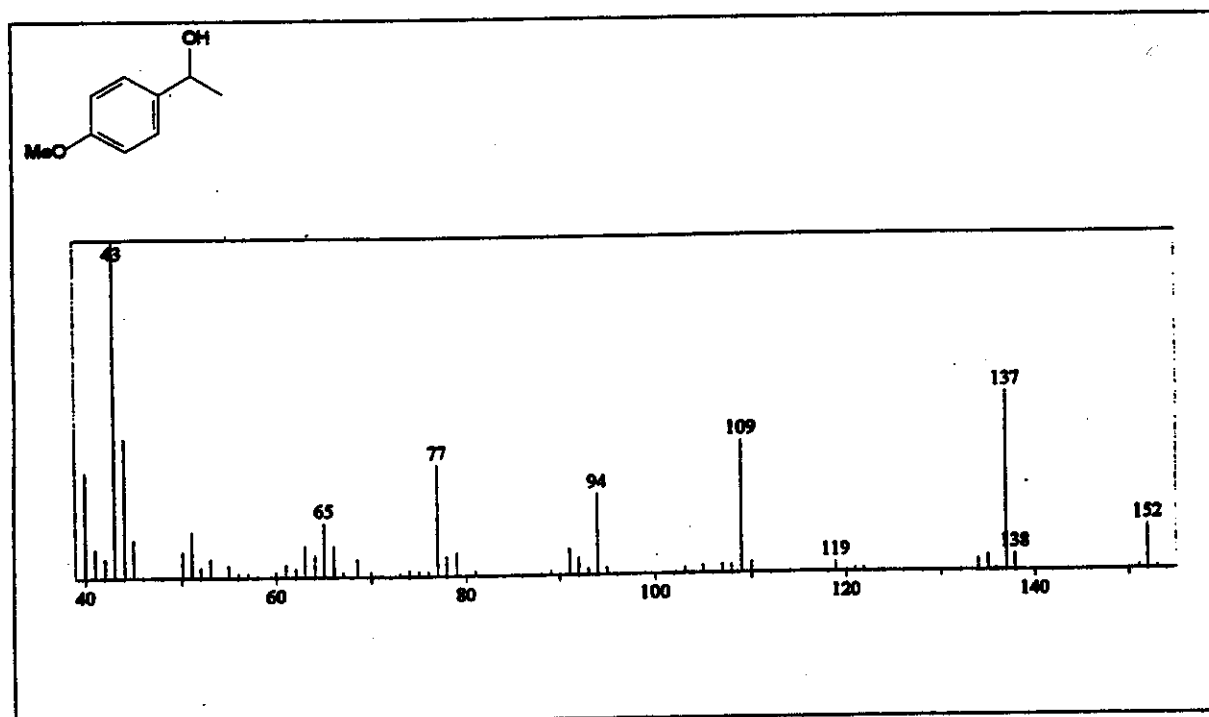
Espectro 53 : IV do 1-fenil-2-metil-propanol, 86d



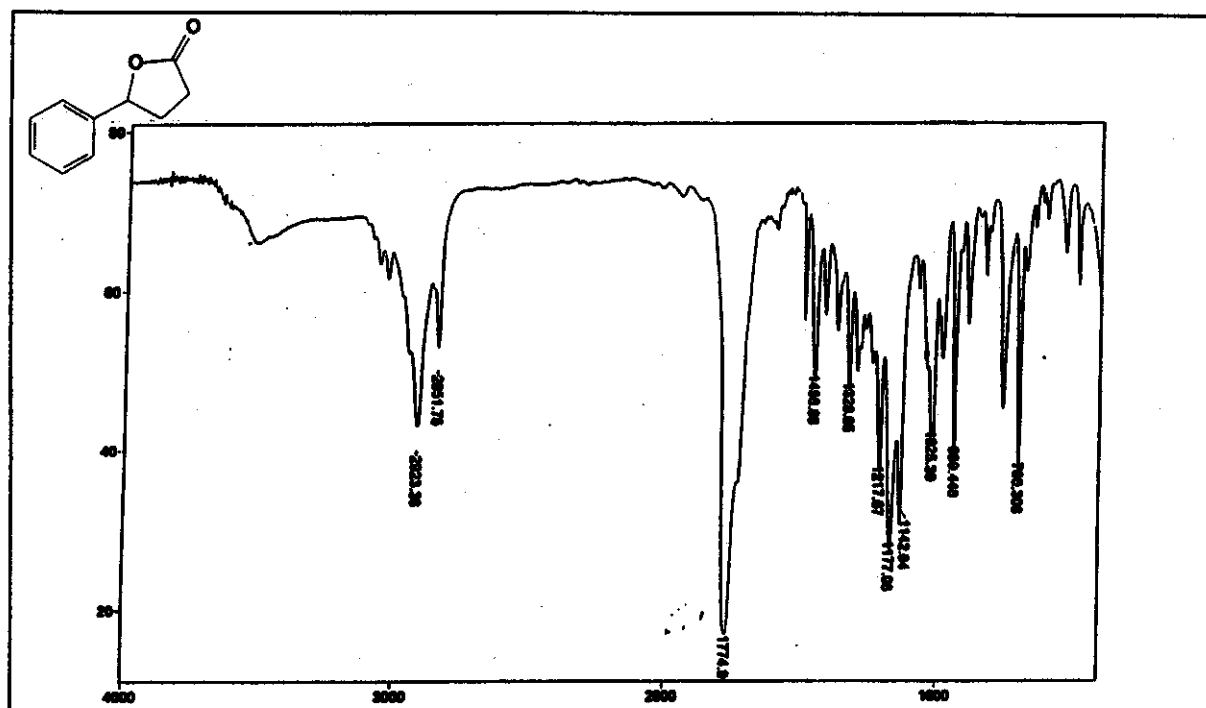
Espectro 54 : EM do 1-fenil-2-metil-1-propanol, 86d



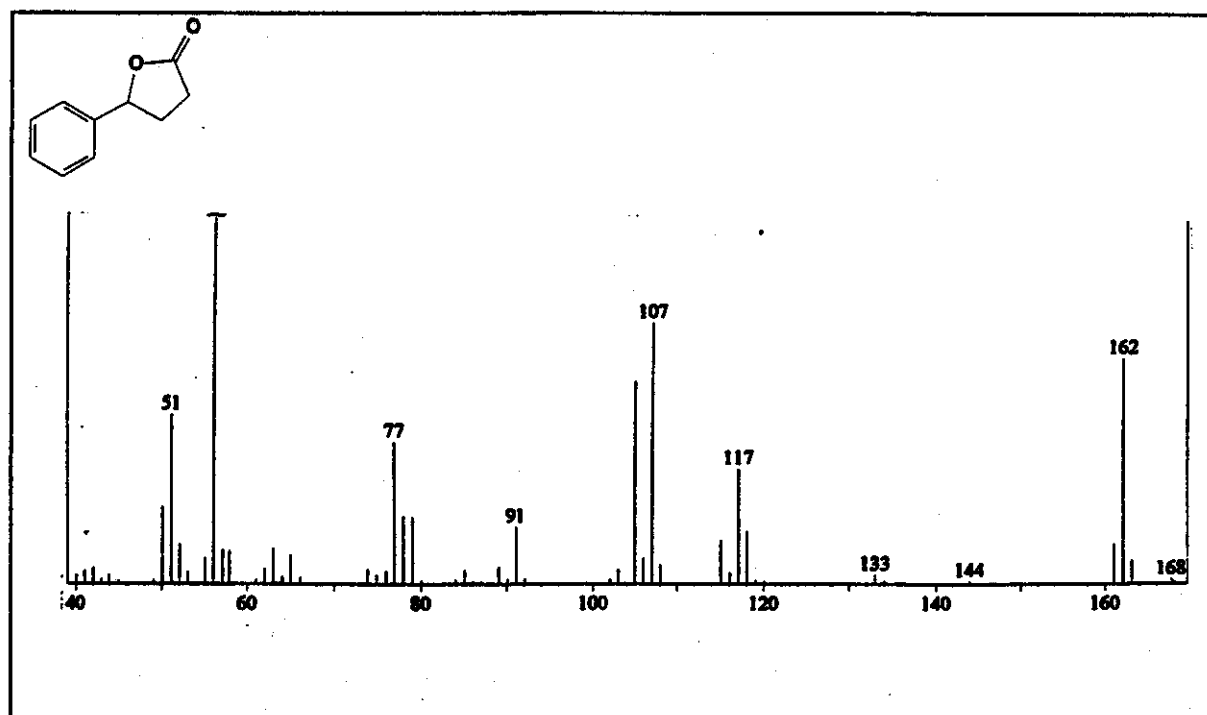
Espectro 55 : RMN¹H do 1-fenil-2-metil-1-propanol, 86d



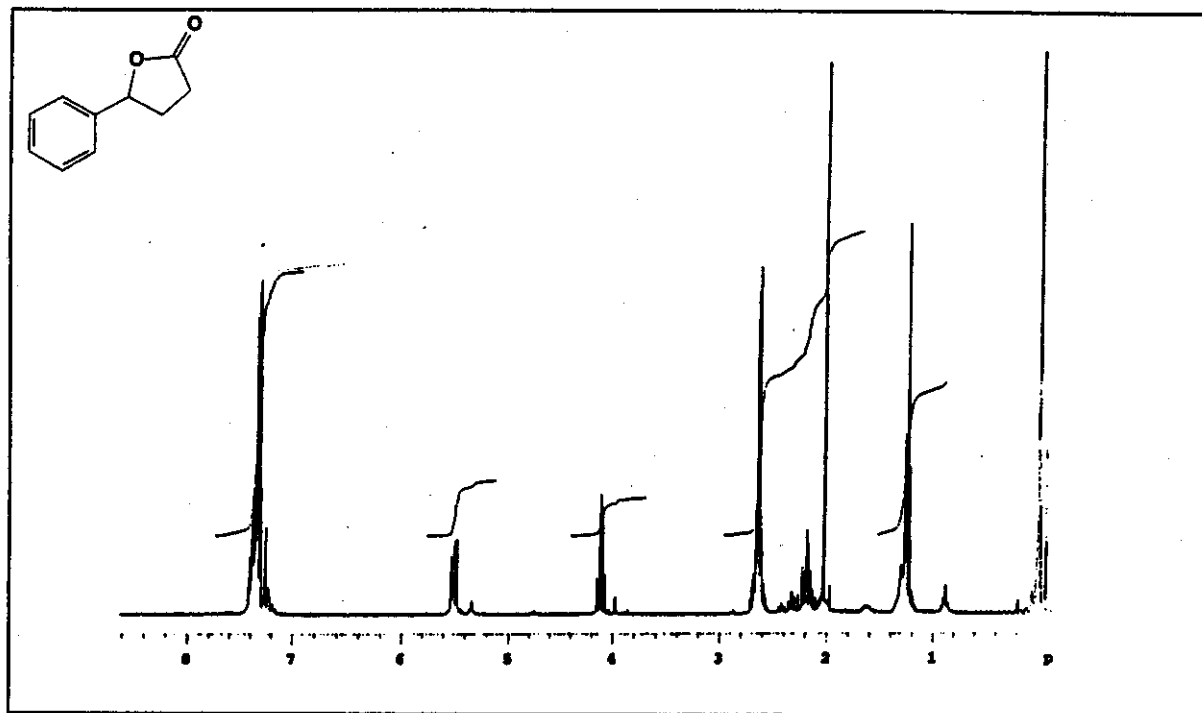
Espectro 56 : EM do 1-(4-metoxifenil)-1-etanol



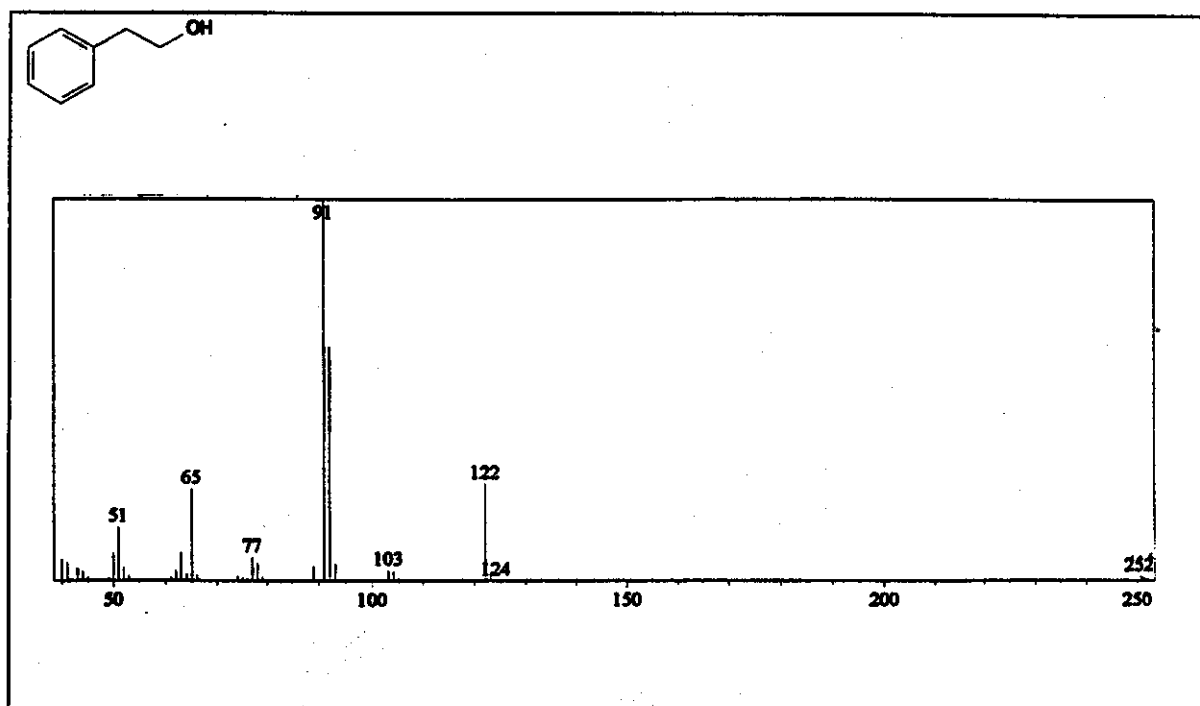
Espectro 57 : IV da 5-feniltetraidro-2-furanona, 87b



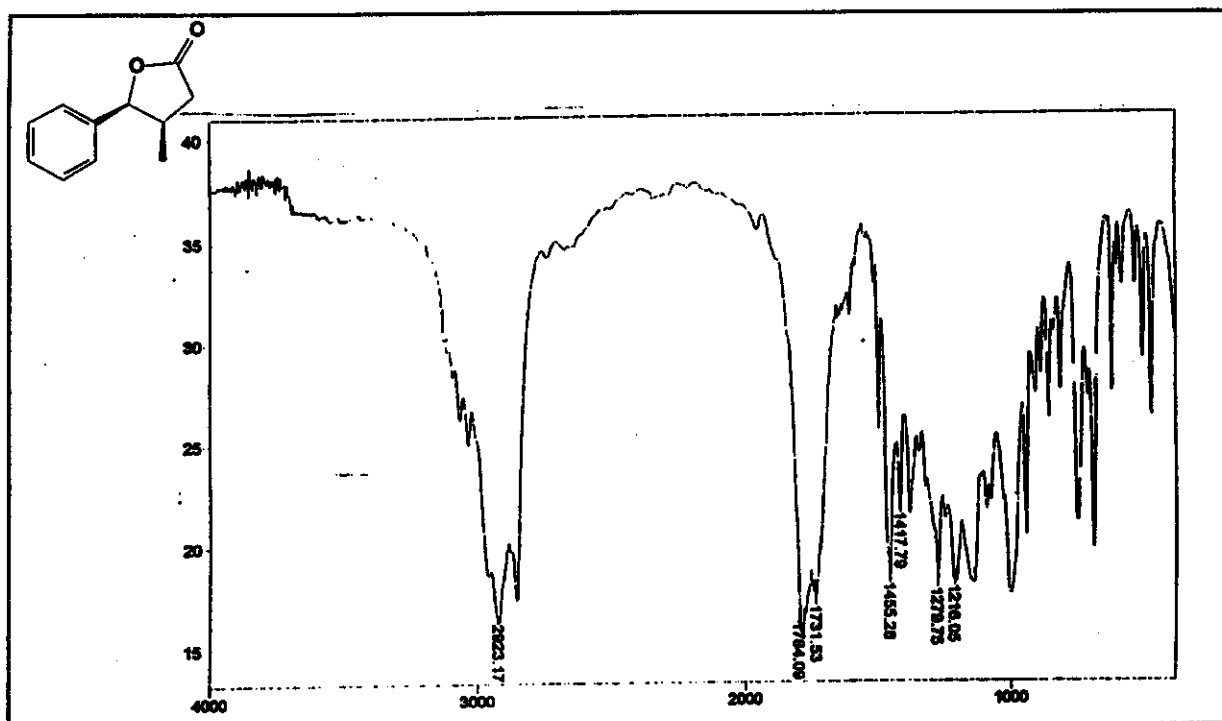
Espectro 58 : EM da 5-feniltetraidro-2-furanona, 87b



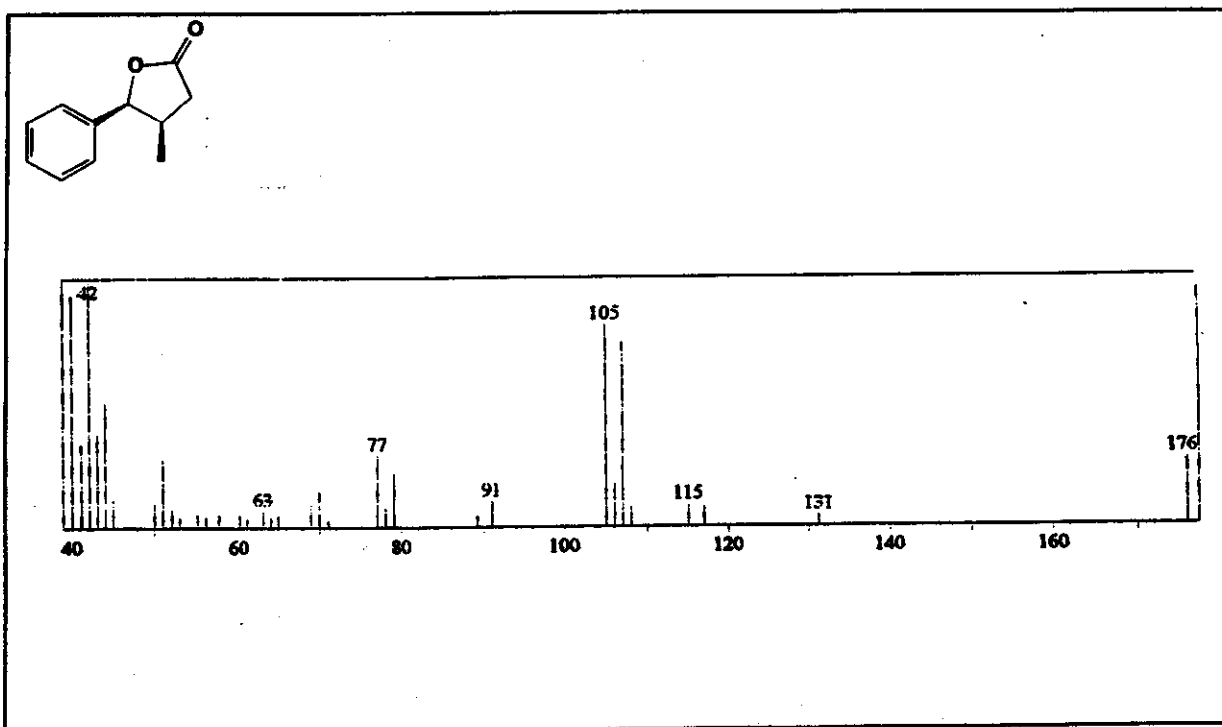
Espectro 59 : RMN¹H da 5-feniltetraidro-2-furanona, 87b



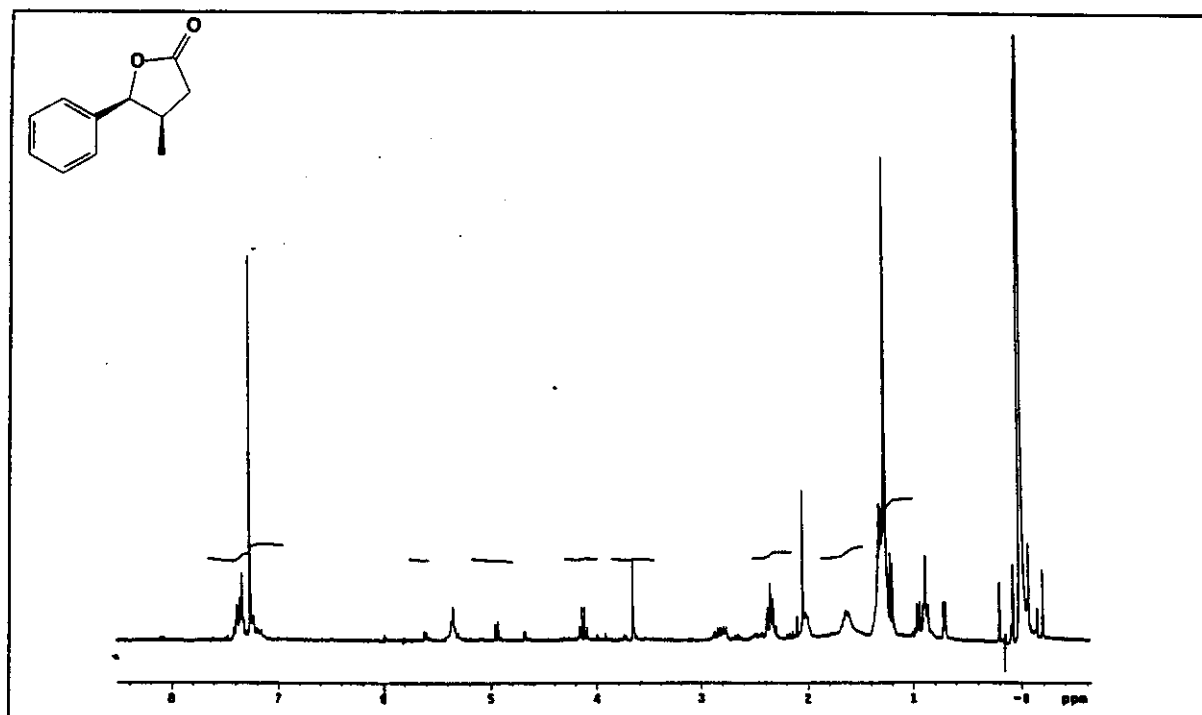
Espectro 60 : EM do 3-fenil-1-propanol, 88



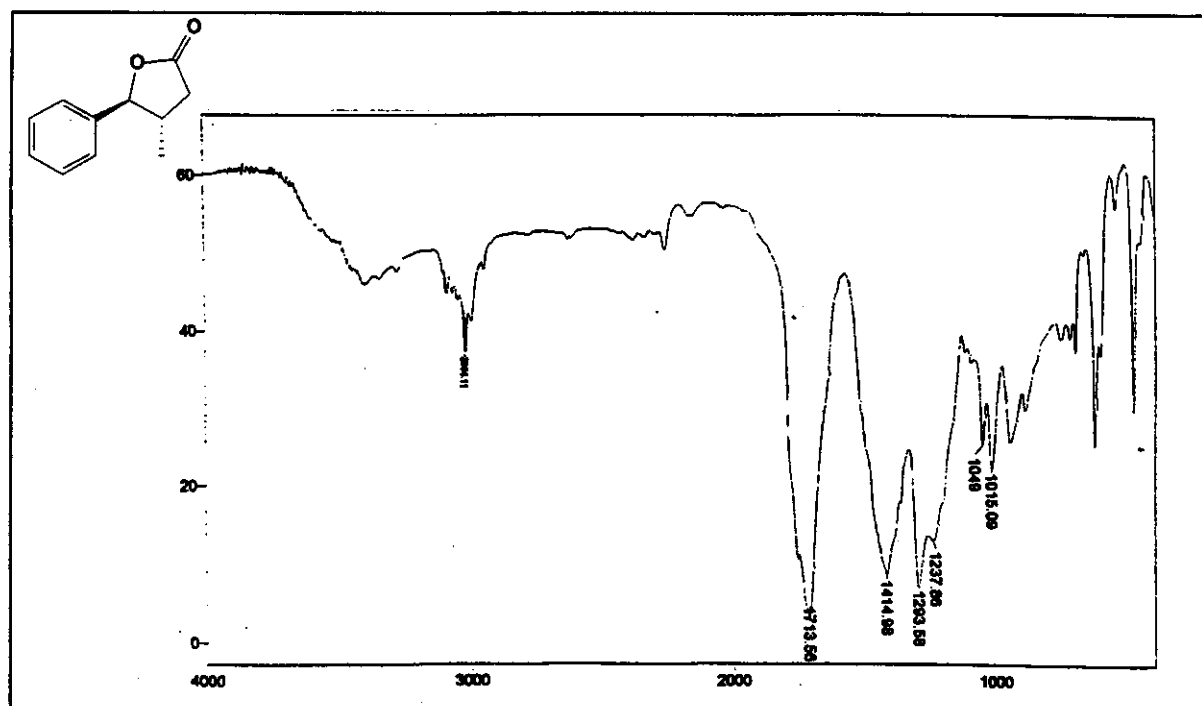
Espectro 61 : IV da *syn*-5-fenil-4-metil-tetraidro-2-furanona, *syn*-89



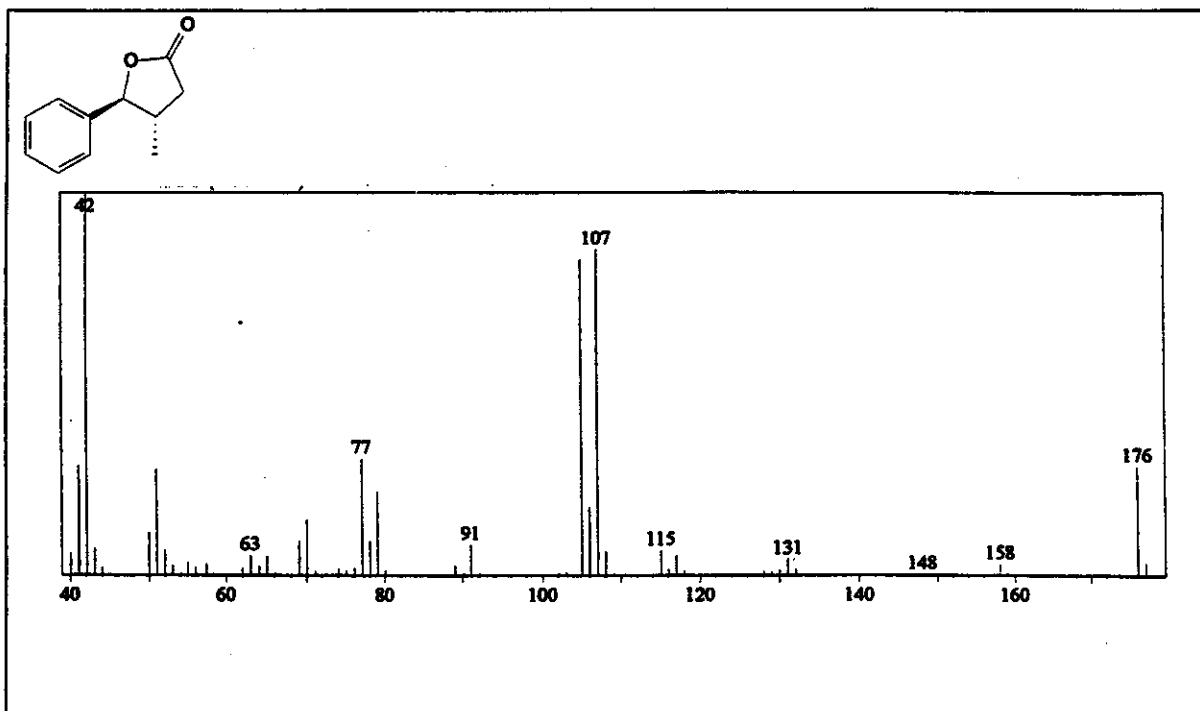
Espectro 62 : EM da *syn*-5-fenil-4-metil-tetraidro-2-furanona, *syn*-89



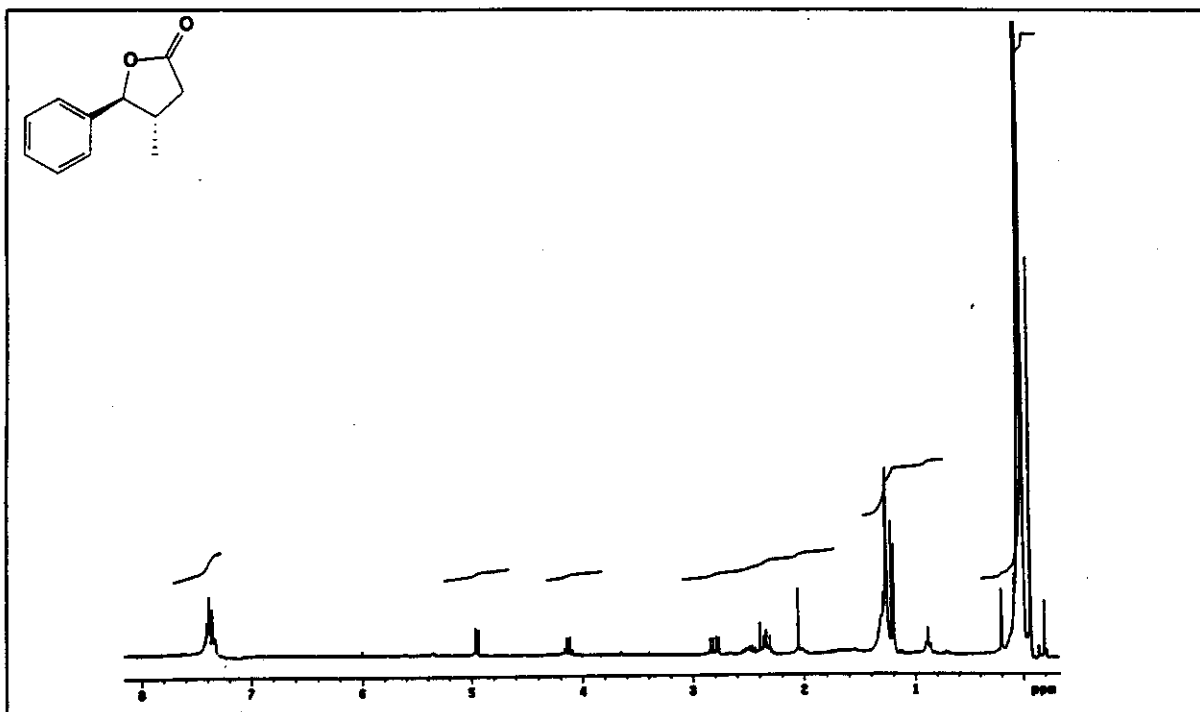
Espectro 63 : RMN¹H da *syn*-5-fenil-4-metil-tetraidro-2-furanona, *syn*-89



Espectro 64 : IV da *anti*-5-fenil-4-metil-tetraidro-2-furanona, *anti*-89



Espectro 65 : EM da *anti*-5-fenil-4-metil-tetraidro-2-furanona, *anti*-89



Espectro 66 : RMN¹H da *anti*-5-fenil-4-metil-tetraidro-2-furanona, *anti*-89